

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GENIKELLY CAVALCANTI MACHADO

CONTAMINANTES QUÍMICOS EMERGENTES EM ÁGUAS NATURAIS E DE
ABASTECIMENTO PÚBLICO: DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO E ESTUDO
DE CASO ENVOLVENDO CAPITAIS ESTADUAIS DO BRASIL

CURITIBA

2015

GENIKELLY CAVALCANTI MACHADO

CONTAMINANTES QUÍMICOS EMERGENTES EM ÁGUAS NATURAIS E DE
ABASTECIMENTO PÚBLICO: DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO E ESTUDO DE
CASO ENVOLVENDO CAPITAIS ESTADUAIS DO BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Química da Universidade Federal do Paraná
como requisito parcial à obtenção do título de
Doutor em Química.

Área de Concentração: Química Analítica

Orientador: Prof.^o Dr. Marco Tadeu Grassi

CURITIBA

2015

M149c

Machado, Genikelly Cavalcanti

Contaminantes químicos emergentes em águas naturais e de abastecimento público : desenvolvimento analítico e estudo de caso envolvendo capitais estaduais do Brasil/ Genikelly Cavalcanti Machado. – Curitiba, 2015.

136 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Química, 2015.

Orientador: Marco Tadeu Grassi .

Bibliografia: p. 109-121.

1. Poluentes. 2. Água - Tratamento. 3. Cromatografia gasosa. 4. Espectrometria de massa. I. Universidade Federal do Paraná. II. Grassi, Marco Tadeu. III. Título.

CDD: 628.168

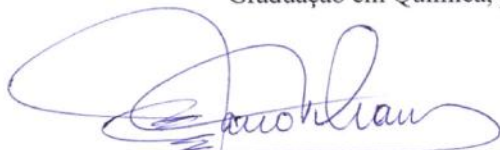
TERMO DE APROVAÇÃO

**CONTAMINANTES QUÍMICOS EMERGENTES EM ÁGUAS
NATURAIS E DE ABASTECIMENTO PÚBLICO: DESENVOLVIMENTO
ANALÍTICO E ESTUDO DE CASO ENVOLVENDO CAPITALIS
ESTADUAIS DO BRASIL**

por

GENIKELLY CAVALCANTI MACHADO

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:



Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi
Orientador
Dep. de Química – UFPR



Profª. Drª. Maria Cristina Canela
Laboratório de Ciências Químicas – UENF



Prof. Dr. Pedro Sérgio Fadini
Dep. de Química – UFSCar



Prof. Dr. Gilberto Abate
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Bruno José Gonçalves da Silva
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 18 de setembro de 2015.

Dedico essa tese ao meu marido Alexandre,
com amor e gratidão pelo apoio e incentivo
durante a realização desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Marco Tadeu Grassi pela orientação nesse trabalho,

Aos colegas do GQA, GQM e Tecnotrater pela agradável convivência,

Agradeço de modo especial àqueles que além de colegas de grupo se tornaram amigos. Ana, Andrey, Beatriz, Emerson, Rafael e Simone, obrigada por toda ajuda na realização desse trabalho, pelas discussões, pelo apoio nos momentos difíceis e também pelos agradáveis momentos de descontração que passamos juntos.

À Beatriz agradeço também por toda ajuda no tratamento de dados, na realização de muitos experimentos, principalmente naqueles realizados nos últimos meses do doutorado.

Aos ex-integrantes do GQA Fernanda, Lucélia, Marcela, Mônica, Rogério e Vânia pelo agradável convívio e amizade durante os primeiros anos do doutorado. À Vânia agradeço também pela ajuda nas coletas realizadas em Florianópolis,

Ao César Alexandro da Silva pelos primeiros ensinamentos sobre GC-MS e pela ajuda no início do doutorado,

À Sandra, Bianca e Larissa pela ajuda com os planejamentos fatoriais,

À Cris Vidal pelo empenho e competência nas análises das amostras do trabalho INCTAA e pela disposição em ajudar sempre,

À prof^a Andreia Neves Fernandes por todo apoio dado na realização das coletas em Porto Alegre,

Ao Michel Batista e Fabrício Marchini pelo apoio dado nos últimos meses de finalização do doutorado, pela paciência e pelas vezes que me liberaram do trabalho para que eu pudesse me dedicar à finalização da tese,

As queridas amigas, Ana Isabel, Camila e Vanessa pelo apoio e incentivo,

Ao INCTAA e CNPq pelo apoio financeiro,

A CAPES pela bolsa de estudo concedida,

A família pelo apoio,

Ao meu marido Alexandre, um agradecimento muito especial pelo amor, carinho, amizade e companheirismo em todos os momentos.

RESUMO

MACHADO, K. C. **Contaminantes químicos emergentes em águas naturais e de abastecimento público: desenvolvimento analítico e estudo de caso envolvendo capitais estaduais do Brasil**. 2015. 136 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

Um número crescente de substâncias orgânicas de origem natural e sintética vem sendo incorporadas ao meio ambiente ao longo das últimas décadas. Isso se deve principalmente ao aumento do padrão de consumo da sociedade moderna, cuja demanda é responsável pelo aumento da produção e disposição dessas substâncias para o meio ambiente. Agrotóxicos, plastificantes, surfactantes, hormônios, fármacos, entre outros, estão entre as substâncias que fazem parte de uma grande classe de contaminantes ambientais denominados Contaminantes Emergentes. Tais contaminantes, normalmente estão presentes em baixas concentrações no meio ambiente, contudo, podem causar efeitos adversos aos seres vivos mesmo em concentrações da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} . Os contaminantes emergentes estão sendo frequentemente detectados em ambientes aquáticos, pois estes recebem grande parte da carga de poluentes liberados no meio ambiente. Como a água é uma das principais vias de exposição dos seres vivos a esses contaminantes, a presença deles tanto em águas superficiais quanto na água tratada vem sendo estudada. O presente trabalho teve como objetivo a otimização de um protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes em água tratada empregando a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS). O método proposto se mostrou adequado para ser empregado na determinação desses contaminantes em água tratada, com potencial para ser aplicado também na análise de outras matrizes aquosas, como águas superficiais. Os limites de detecção e de quantificação obtidos estão dentro da faixa de concentração normalmente descrita na literatura para esses contaminantes em matrizes aquosas, ou seja, $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} . O método otimizado foi aplicado na investigação da presença de contaminantes emergentes em água tratada destinada ao abastecimento da população de Curitiba. A presença desses contaminantes em águas de abastecimento público foi também avaliada nas capitais, Florianópolis, Porto Alegre e Campo Grande, por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS). Foi detectada a presença de contaminantes emergentes na água tratada de todas as capitais avaliadas. As substâncias encontradas foram: cafeína, atrazina, bisfenol A, triclosan e ibuprofeno. A cafeína foi detectada em 100 % das amostras em concentrações que variaram de 3,9 a 236 ng L^{-1} . A segunda substância com maior frequência de detecção foi a atrazina, sendo detectada em 75 % das amostras, em concentrações que variaram de 3,0 a 15,0 ng L^{-1} . Estes resultados mostram que a presença de contaminantes emergentes na água tratada é uma realidade no Brasil e que, apesar de não se conhecer as doses seguras de ingestão para a maioria deles, o conhecimento acerca das concentrações dessas substâncias é de grande relevância.

Palavras-chave: contaminantes emergentes, água tratada, cromatografia gasosa, espectrometria de massas.

ABSTRACT

MACHADO, K. C. **Emerging chemical contaminants in natural and public supply water: analytical development and case study involving state capitals in Brazil**. 2015. 136 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

A growing number of organic substances from both natural and synthetic origins have been incorporated into the environment over the past decades. This is mainly due to the increase in the consumption pattern of modern society, which the demand is responsible for increasing the production and disposal of these substances into the environment. Pesticides, plasticizers, surfactants, hormones, pharmaceuticals and others are among the substances which belong to a large class of environmental contaminants called Emerging Contaminants. These contaminants are usually present in low concentrations in the environment; however, it may cause adverse effects on living beings even in $\mu\text{g L}^{-1}$ and ng L^{-1} concentrations. The presence of emerging contaminants in aquatic environments has been recurrent because most of the pollutants are released into these environments. Since water is one of the main routes of exposure of living beings to these contaminants, their presence both in surface waters and in treated water has been studied. This study aimed to optimize an analytical protocol for the determination of emerging contaminants in treated water using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The method was suitable to be applied in the determination of these contaminants in treated water, with the potential to be applied also in the analysis of other aqueous matrices, such as surface water. The limits of detection and quantification are within the concentration range described in the literature for these contaminants in aqueous matrices. The optimized method was applied to investigate the presence of emerging contaminants in the treated water supplied to the Curitiba population. The presence of these contaminants in public supply waters was also evaluated in Florianópolis, Porto Alegre and Campo Grande. However, the samples collected in these cities were analyzed by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS / MS). Emerging contaminants were detected in all treated water samples collected in the Brazilian capitals assessed in this study. The contaminants determined were: caffeine, atrazine, bisphenol A, triclosan and ibuprofen. Caffeine was detected in 100 % of the samples, in concentrations ranging from 3.9 to 236 ng L^{-1} . The second substance with the highest frequency of detection was atrazine, being detected in 75 % of samples in concentrations ranging from 3.0 to 15.0 ng L^{-1} . These results show that the presence of emerging contaminants in treated water is a reality in Brazil. Despite the safe levels of intake for many of these compounds are not yet known, the knowledge about their concentrations is important.

Keywords: emerging contaminants, treated water, gas chromatography, mass spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Vias de aporte, transporte e destino de contaminantes emergentes no meio ambiente.....	24
Figura 2 – Estruturas moleculares do (a) nonilfenol e (b) octilfenol.....	27
Figura 3 – Estrutura molecular da Atrazina	29
Figura 4 – Estrutura molecular do bisfenol A.....	30
Figura 5 – Estrutura molecular do Triclosan.....	31
Figura 6 – Estrutura molecular do Metil-triclosan	32
Figura 7 – Estrutura básica dos esteroides	33
Figura 8 – Estruturas moleculares de alguns hormônios esteroides	34
Figura 9 – Estrutura molecular da cafeína	35
Figura 10 – Estrutura molecular do Ibuprofeno	36
Figura 11 – Estrutura molecular do Paracetamol	37
Figura 12 – Diagrama de polaridade-volatilidade que mostra a tendência para escolha entre as técnicas de LC ou GC de acordo com as características físico-químicas de uma determinada substância.....	42
Figura 13 – Mecanismo da reação de sililação via SN2.....	47
Figura 14 - Cafeína na água tratada e manancial em amostras coletadas nas cidades de Porto Alegre, Curitiba, Florianópolis e Campo Grande.	73
Figura 15 - Atrazina na água tratada e manancial em amostras coletadas nas cidades de Porto Alegre, Curitiba, Florianópolis e Campo Grande.	74
Figura 16 – Concentração média de cafeína na água tratada vs. Volume de precipitação (mm). PR/11 e PR/12: amostras coletadas em Curitiba em 2011 e 2012, respectivamente. RS/11 e RS/12: amostras coletadas em Porto Alegre em 2011 e 2012.	75
Figura 17 - (a) Cromatograma de íons totais para os 19 contaminantes emergentes em estudo após derivatização (Concentração: 0,50 mg L ⁻¹). (b) Cromatograma de íon extraído para o composto EE2 (t _R = 22,81 min) e espectro de massas com destaque para os fragmentos m/z= 425 (quantificação) e m/z= 440 (confirmação).	79
Figura 17 - (a) Cromatograma de íon extraído da ATZ-D5 (t _R = 13,55 min) e ATZ (t _R = 13,62 min). (b) Espectro de massas da ATZ-D5 (m/z quantificação/confirmação:	

205/220). (c) Espectro de massas ATZ ($m/z_{\text{quantificação/confirmação}}$: 200/215). (Concentração da solução padrão: $0,50 \text{ mg L}^{-1}$).	81
Figura 19 - Representação geométrica para os compostos que apresentaram efeito de terceira ordem no planejamento fatorial 2^{5-1} realizado para otimização do método cromatográfico. Concentração: $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Ponto central: $n=3$	85
Figura 20 - Comparação entre a média das áreas de pico ($n=3$) de quatro substâncias deuteradas (concentração: $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) analisadas por GC-MS na sua forma não derivatizada e após reação de derivatização. Condições da derivatização: banho termostatizado a $75 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 90 min, $100 \text{ } \mu\text{L}$ BSTFA.	88
Figura 21 - Representação geométrica do planejamento fatorial realizado para otimização do método de <i>derivatização1</i> . Resultados obtidos para os compostos Ibuprofeno e Ibuprofeno-D3 (concentração: $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$). Reação de derivatização realizada em banho termostatizado. Ponto central: $n=4$	90
Figura 22 - Representação geométrica do planejamento fatorial realizado para otimização do método de <i>derivatização2</i> . Resultados obtidos para os compostos Ibuprofeno-D3, Paracetamol, Nonilfenol, Bisfenol A-D16, Bisfenol A e Estriol (concentração: $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$). Reação de derivatização realizada em micro-ondas. Ponto central: $n=5$	91
Figura 23 - Representação geométrica do planejamento fatorial realizado para otimização do método de <i>derivatização2</i> . Resultados obtidos para os compostos Octilfenol, Triclosan, Estrona e Estradiol (concentração: $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$). Reação de derivatização realizada em micro-ondas. Ponto central: $n=5$	92
Figura 24 - Comparação entre os resultados obtidos para a derivatização dos contaminantes emergentes realizada em banho termostatizado ($50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 60 min e $60 \text{ } \mu\text{L}$ de BSTFA) e em micro-ondas (840 W de potência, 5 min e $20 \text{ } \mu\text{L}$ de BSTFA). Concentração: $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, $n=3$	93
Figura 25 – (a) Pico cromatográfico da cafeína em solução padrão ($1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) e (b) Pico cromatográfico da cafeína em água tratada ($90 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) com os respectivos espectros de massas mostrando um sinal de maior intensidade referente ao $m/z = 194$, característico da desse composto.	97
Figura 26 – Resultado do ensaio de recuperação aplicando o método otimizado na determinação de contaminantes emergentes em amostras de água ultrapura	

fortificada com substâncias padrão de 15 CE e 3 <i>surrogates</i> em dois níveis de concentração, 50 e 100 ng L ⁻¹ (n=3).	102
Figura 27 – Fluxograma com a descrição das etapas do protocolo analítico otimizado para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS.	104
Figura 28 – Concentração de cafeína em água tratada coletadas em Curitiba em campanhas realizadas em 2011, 2012 e 2015.....	107
Figura A2.1 - Curvas analíticas para 15 padrões de contaminantes emergentes e 3 substâncias deuteradas. Concentrações: 1, 5, 10, 25, 50, 75 e 100 100 µg L ⁻¹ . Concentração do padrão interno: 100 µg L ⁻¹	134
Figura A3.1 – Cromatogramas e espectros de massas do ibuprofeno em solução padrão e em água tratada, respectivamente (m/z _{quantificação} = 160).....	135
Figura A3.2 – Cromatogramas e espectros de massas da cafeína em solução padrão e em água tratada, respectivamente. (m/z _{quantificação} = 194).....	136
Figura A3.2 – Cromatogramas e espectros de massas do bisfenol A em solução padrão e em água tratada, respectivamente. (m/z _{quantificação} = 357).....	137

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados demográficos e de coleta de água tratada e manancial em quatro capitais Brasileiras.	51
Tabela 2 – Sistemas de abastecimento de água de Curitiba e RMC.	53
Tabela 3 – Sistemas de abastecimento de água de Florianópolis e RMF.....	54
Tabela 4 – Sistemas de abastecimento de água de Porto Alegre.....	56
Tabela 5 – Sistemas de abastecimento de água de Campo Grande.	57
Tabela 6 – Lista dos padrões utilizados no estudo do INCTAA de avaliação da presença de contaminantes emergentes em águas de abastecimento público nas capitais do Brasil.	58
Tabela 7 – Lista dos padrões de contaminantes emergentes utilizados na otimização do protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS.....	63
Tabela 8 - Condições avaliadas na otimização de alguns parâmetros cromatográficos utilizando um planejamento fatorial 2^{5-1}	66
Tabela 9a - Condições avaliadas na otimização do método <i>derivatização</i> 1.	66
Tabela 9b - Condições avaliadas na otimização do método <i>derivatização</i> 2.	66
Tabela 10 - Contaminantes Emergentes em amostras de água tratada e manancial coletadas nas capitais Porto Alegre, Curitiba, Florianópolis e Campo Grande ..	71
Tabelas 11 – Cafeína em águas de abastecimento em diversos países.	76
Tabela 12 – Valores de m/z de quantificação e confirmação para 15 contaminantes emergentes e 4 substâncias deuteradas.....	82
Tabela 13 – Dados da precisão instrumental, repetibilidade e precisão intermediária para o método proposto para determinação de CE por GC-MS.	99
Tabela 14 – Parâmetros da curva analítica.....	100
Tabela 15 – Comparação entre limites de detecção e quantificação obtidos pelo método proposto e outros métodos descritos na literatura empregando CG-MS.	103
Tabela 16 – Dados da coleta de água tratada em Curitiba e valores individuais dos CE determinados por GC-MS.	105
Tabela A1.1 – Parâmetros estatísticos e cálculo dos efeitos para o planejamento fatorial 2^{5-1} para otimização dos parâmetros cromatográficos.....	123

Tabela A1.2 – Parâmetros estatísticos e cálculo dos efeitos para o planejamento fatorial 2^3 para otimização do método de derivatização em banho termostatizado (<i>derivatização1</i>).....	124
Tabela A1.3 – Parâmetros estatísticos e cálculo dos efeitos para o planejamento fatorial 2^3 para otimização do método de derivatização em forno micro-ondas (<i>derivatização2</i>).....	125

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANA	Agência Nacional de Águas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATZ	Atrazina
ATZ-D5	Atrazina-d5
BISA	Bisfenol A
BISA-D16	Bisfenol A-d16
BSTFA	N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida
CAF	Cafeína
CASAN	Companhia Catarinense de Água e Saneamento
CE	Contaminantes Emergentes
DMAE	Departamento Municipal de Água e Esgoto
E1	Estrona
E2	17 -estradiol
E2-D3	17 -estradiol-d3
E3	Estriol
ECOS	<i>Environmental Council of the States</i>
EE2	17 -etinilestradiol
EI	Electron Impact
EMA	<i>European Medicine Agency</i>
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
EU	<i>European Union</i>
GC-MS	<i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBU	Ibuprofeno
IBU-D3	Ibuprofeno-d3
IE	Interferente Endócrino
INCTAA	Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas
Kow	Coeficiente de partição octanol-água
LC-MS	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i>
LD	Limite de Detecção

LQ	Limite de Quantificação
m/z	massa carga
MTCS	Metil-Triclosan
NON	Nonilfenol
OCT	Octilfenol
PARAC	Paracetamol
PGN	Progesterona
PI	Padrão Interno
P _{instrumental}	Precisão Instrumental
P _{intermediária}	Precisão Intermediária
R	Coeficiente de correlação
RMC	Região Metropolitana de Curitiba
RMF	Região Metropolitana de Florianópolis
RMPOA	Região Metropolitana de Porto Alegre
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i>
SANEPAR	Companhia de Saneamento do Paraná
SCLS	Sistema Costa Leste-Sul
SCN	Sistema Costa Norte
SIF	Sistema Integrado de Abastecimento de Água da Grande Florianópolis
SN2	Substituição nucleofílica de segunda ordem
SNIS	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>
TCS	Triclosan
TMCS	Trimetilclorosilano
t _R	Tempo de retenção
TTN	Testosterona
U. S. GS	United State Geological Survey
U.S. EPA	United State Environmental Protection Agency
VMP	Valor Máximo Permitido
W	Watts
	Ohm

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS.....	21
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1 CONTAMINANTES EMERGENTES	22
3.1.1 Ocorrência de contaminantes emergentes em ambientes aquáticos	22
3.1.2 Alquilfenóis.....	26
3.1.3 Atrazina	28
3.1.4 Bisfenol A	29
3.1.5 Triclosan e Metil-Triclosan	31
3.1.6 Hormônios.....	32
3.1.7 Cafeína.....	34
3.1.8 Fármacos	35
3.1.9 Efeitos ecotoxicológicos	37
3.1.10 Legislação	39
3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGADOS NA DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES	41
3.3 PREPARO DE AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM MATRIZES AQUOSAS	44
3.3.1 Derivatização	46
4 MATERIAIS E MÉTODOS	50
4.1 PARTE 1	50
4.1.1 Critérios de amostragem para avaliação da presença de CE em águas de abastecimento público nas capitais, Curitiba, Florianópolis, Porto Alegre e Campo Grande.....	50
4.1.2 Dados dos sistemas de abastecimento de águas das capitais, Curitiba, Florianópolis, Porto Alegre e Campo Grande.....	51
4.1.3 Reagentes e Soluções	57
4.1.4 Procedimento de limpeza e descontaminação dos materiais e vidrarias ..	59
4.1.5 Coleta, armazenamento e preparo das amostras	59
4.1.6 Análise cromatográfica por LC-MS/MS	61

4.2 PARTE 2	62
4.2.1 Reagentes, soluções, limpeza e descontaminação de vidrarias.	62
4.2.2 Parâmetros Instrumentais para determinação de CE por GC-MS	64
4.2.3 Parâmetros para derivatização	66
4.2.4 Curva Analítica, Recuperação e Parâmetros de Mérito	67
4.2.5 Avaliação da presença de contaminantes emergentes em águas de abastecimento público em Curitiba.	68
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.1 PARTE 1	70
5.1.1 Presença de contaminantes emergentes em águas de abastecimento público nas capitais, Curitiba, Porto Alegre, Florianópolis e Campo Grande	70
5.2 PARTE 2	78
5.2.1 Otimização do método cromatográfico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS.....	78
5.2.2 Otimização do protocolo de derivatização.....	86
5.2.3 Parâmetros de Mérito.....	95
5.2.4 Determinação de Contaminantes Emergentes em Águas de Abastecimento empregando GC-MS	104
6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110
ANEXOS	123
ANEXO 1 – DADOS COMPLETOS DOS PLANEJAMENTOS FATORIAIS.....	123
ANEXO 2 – CURVA ANALÍTICA	126
ANEXO 3 – CROMATOGRAMAS E ESPECTROS DE MASSAS DOS CONTAMINANTES EMERGENTES	135

1 INTRODUÇÃO

A água, uma das substâncias mais abundantes no planeta, é fundamental para o equilíbrio dos ecossistemas e, conseqüentemente, para manutenção da vida na Terra. Contudo, nas últimas décadas vêm crescendo a preocupação em relação ao mau uso dos recursos hídricos, principalmente no que diz respeito aos problemas relacionados à poluição de águas superficiais que são utilizadas para o abastecimento da população.

Nos últimos anos vários estudos a respeito da contaminação de ambientes aquáticos superficiais têm mostrado a presença de contaminantes até pouco tempo negligenciados, mas que vêm chamando a atenção da comunidade científica, sendo denominados contaminantes emergentes (CE) (AZEVEDO *et al.*, 2001; KNEE *et al.*, 2010; MONTAGNER; JARDIM, 2011; SODRÉ *et al.*, 2010b; THOMAS *et al.*, 2014; ZUCCATO; CASTIGLIONI; FANELLI, 2005).

Os problemas que esses contaminantes podem ocasionar tanto ao meio ambiente quanto a saúde dos seres vivos ainda não são totalmente conhecidos, mas a exposição dos seres vivos aos contaminantes emergentes tem sido apontada como potencialmente perigosa mesmo quando as concentrações são baixas, por exemplo, da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou até mesmo ng L^{-1} (BILA; DEZOTTI, 2007; FONTENELE *et al.*, 2010).

No que diz respeito à exposição dos seres humanos aos contaminantes emergentes, atenção especial deve ser dada à presença deles tanto em águas superficiais utilizadas como fonte de abastecimento para a população quanto na água tratada, uma vez que, muitos desses contaminantes têm sido determinados com frequência nessas matrizes em vários países ao redor do mundo, incluindo o Brasil (CALDAS *et al.*, 2013; CANELA *et al.*, 2014; GONG *et al.*, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2009; RODIL *et al.*, 2012; SODRÉ *et al.*, 2010a; STUMPF *et al.*, 1999; WATKINSON *et al.*, 2009).

No Brasil, esta é uma questão bastante relevante devido à deficiência de políticas públicas que visem solucionar os problemas de saneamento básico, ainda muito evidentes. A precariedade do saneamento básico somada ao crescimento desordenado da população nas grandes cidades pode ser considerada, nos dias

atuais, como uma das principais causas da degradação e poluição dos corpos hídricos no Brasil (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2011).

Em um país com uma população que já ultrapassa os 200 milhões de habitantes (IBGE, 2015), cerca de 45 % dos municípios brasileiros não fornecem serviços de saneamento básico à população. O percentual de domicílios com acesso a rede de esgotamento sanitário não ultrapassa 50 % e grande parte do esgoto coletado não recebe tratamento adequado antes de ser lançado nos corpos d'água. Dados do Atlas de Saneamento 2011, divulgado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostram que aproximadamente 31 % dos municípios brasileiros lançam esgoto não tratado em rios, lagos ou lagoas e que esses mesmos corpos receptores são utilizados pela população para diversos fins, dentre eles, irrigação e abastecimento de água. Nem mesmo o acesso à água potável é universal. Aproximadamente 10 % da população brasileira não têm acesso aos serviços de abastecimento de água tratada (IBGE, 2011).

No Paraná esta realidade não é muito diferente. O índice de distribuição de água tratada a população chega a no máximo 90 % enquanto que a coleta e tratamento de esgoto atendem cerca de metade da população do estado (IBGE, 2012; MENDES, 2011). O município de Curitiba ocupa a 10ª posição no *ranking* dos melhores centros urbanos em saneamento básico no Brasil com praticamente 100 % dos domicílios atendidos com água potável. Mais de 80 % da população da capital paranaense possui rede coletora de esgoto em seus domicílios. Entretanto, do total de esgoto coletado, pouco mais de 50 % passa por tratamento (IBGE, 2011; SNIS, 2012). Esses dados evidenciam que a questão do saneamento básico ainda é bastante ineficiente podendo acarretar em consequências tanto para a saúde da população quanto causar danos ao meio ambiente.

Diante do aumento da presença dos contaminantes emergentes no meio ambiente, especialmente em ambientes aquáticos e consequentemente o aumento da exposição dos seres humanos a esses poluentes, torna-se cada vez mais importante o monitoramento da presença deles em matrizes aquáticas, sendo necessário para isso, primeiramente, o desenvolvimento e a otimização de métodos que sejam capazes de determinar tais contaminantes em baixas concentrações (da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou inferior). Informações obtidas a partir do monitoramento de contaminantes emergentes em ambientes aquáticos podem contribuir no futuro para

o estabelecimento de limites adequados e seguros para a exposição de seres vivos frente a esses poluentes.

Nesse contexto, partes dos resultados apresentados nessa tese fazem parte de um trabalho desenvolvido ao longo do período de doutoramento, o qual se insere em um projeto de maior abrangência, realizado em conjunto com pesquisadores de vários grupos de pesquisa integrantes do Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA). O trabalho desenvolvido no âmbito do INCTAA avaliou a presença de contaminantes emergentes em água de abastecimento público em diversas capitais brasileiras nos anos 2011 e 2012 e contribuiu para evidenciar a importância do tema, apontando para necessidade de estudos de maior abrangência para melhor entendimento da disponibilidade desses contaminantes na água destinada ao abastecimento da população.

Os resultados obtidos no estudo do INCTAA também colaboraram para a escolha dos analitos que foram então contemplados na otimização do protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), objetivo principal do desenvolvimento dessa tese.

Dessa forma, nesse documento serão contemplados num primeiro momento os resultados do estudo do INCTAA realizado nas capitais, Curitiba, Porto Alegre, Florianópolis e Campo Grande, uma vez que todo levantamento de informações, coleta e preparo de amostras para essas capitais foram de responsabilidade do Grupo de Química Ambiental (GQA) do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná. Na sequência, serão apresentados os resultados da otimização do protocolo para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS e sua aplicação na análise de amostras de água de abastecimento da cidade de Curitiba.

2 OBJETIVOS

O desenvolvimento deste trabalho teve por objetivo:

- Realizar uma avaliação preliminar quanto à presença de contaminantes emergentes nas águas destinadas ao abastecimento público da população de três capitais da região Sul, Curitiba, Florianópolis e Porto Alegre além da capital de Mato Grosso do Sul, Campo Grande. Esta avaliação foi feita no âmbito do projeto desenvolvido pelo Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA), que visa avaliar a qualidade das águas de abastecimento, quanto à presença de contaminantes emergentes, nas principais capitais no Brasil;
- Selecionar os contaminantes emergentes (com base nos resultados do estudo descrito no item acima) para otimização de um protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes empregando a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS);
- Aplicar o método na investigação da presença de contaminantes emergentes nas águas destinadas ao abastecimento da população de Curitiba.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

3.1.1 Ocorrência de contaminantes emergentes em ambientes aquáticos

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA, do inglês *United State Environmental Protection Agency*) (USEPA, 2014) e Agência de Pesquisas Geológicas dos Estados Unidos (U. S. GS, do inglês *United State Geological Survey*) (USGS, 2014), pode ser considerado um contaminante emergente qualquer substância de origem natural ou sintética que vem sendo detectada atualmente no meio ambiente e que pode causar algum dano à biota e aos seres humanos. Já o Conselho de Meio Ambiente dos Estados Unidos (ECOS, do inglês *Environmental Council of the States*) (ECOS, 2014) define contaminantes emergentes como sendo substâncias que apresentam uma ameaça real ou aparente à saúde dos seres humanos ou ao meio ambiente, para as quais não há padrões definidos em legislações ou a base científica para estabelecimento de tais padrões ainda está sendo desenvolvida ou reavaliada.

Com base nestas definições, fica evidente que a quantidade de substâncias que podem ser classificadas como um “contaminante emergente” é muito ampla, podendo envolver substâncias presentes em produtos de uso em higiene pessoal, produtos farmacêuticos, agrícolas, industriais, dentre outros.

Um número cada vez maior de substâncias vem sendo incorporadas ao meio ambiente ao longo das últimas décadas devido principalmente ao aumento do padrão de consumo da sociedade moderna, cuja demanda é responsável pelo aumento na produção e conseqüentemente pela disposição das mais diversas substâncias nos compartimentos ambientais, como solo, ar e água (ALMEIDA *et al.*, 2007).

Um levantamento sobre a produção mundial de produtos químicos manufaturados em grande escala desde a década de 30 até meados de 2000, mostra que houve um aumento de 1,0 milhão para 400 milhões de toneladas na

quantidade produzida por ano. Dados gerados pela Organização Estatística da Comunidade Européia (EUROSTAT, 2013), considerando 28 países do continente europeu, mostram que entre 2002 e 2011, mais de 50 % da produção total de produtos químicos é representado por substâncias que são prejudiciais para os ambientes aquáticos, podendo provocar um impacto nocivo de moderado a grave nestes ecossistemas.

O surgimento dessas substâncias químicas proveniente de produtos manufaturados em ambientes aquáticos pode estar relacionado a vários fatores. Um deles inclui a urbanização dos grandes centros que leva a um impacto significativo dos recursos hídricos da região urbanizada, normalmente, em função do aporte de efluentes domésticos e/ou industrial. Outro fator está relacionado às práticas agrícolas intensivas que levam a contaminação do solo e consequentemente pode causar a lixiviação de poluentes para as águas superficiais e subterrâneas, chegando até mesmo à água tratada (GAVRILESCU *et al.*, 2015).

Muitos estudos sobre contaminantes emergentes têm focado na presença de substâncias químicas manufaturadas em ambientes aquáticos. Isso devido ao fato da carga elevada de poluentes que esses ambientes recebem e também pela ampla variedade de substâncias que aportam nesses ecossistemas. Além disso, muitos estudos já mostraram a influência e os efeitos nocivos que algumas substâncias classificadas como contaminantes emergentes podem causar a espécies aquáticas (DANG; TRAAS; VERMEIRE, 2011; DEBLONDE; COSSU-LEGUILLE; HARTEMANN, 2011; STUART *et al.*, 2012; SUMPTER, 2005; SUMPTER; JOHNSON, 2005).

As águas superficiais, por exemplo, funcionam como áreas receptoras da maior parte dos poluentes intencionalmente liberados no meio ambiente. O aporte de poluentes nesses corpos d'água pode ocorrer por fontes difusas, cuja origem não pode ser facilmente identificada (deposições atmosféricas, lixiviação de compostos do solo, drenagem de águas pluviais em ambientes rurais e urbanos, entre outros) ou também pode ocorrer por fontes que são facilmente identificadas, chamadas de fontes pontuais, como é o caso do lançamento de esgoto tratado e em muitos casos até mesmo do esgoto bruto (não tratado). Esses dois últimos fatores têm sido apontados como a principal fonte de contaminação das águas superficiais (GÓMEZ *et al.*, 2006; ORT *et al.*, 2010; ZUCCATO; CASTIGLIONI; FANELLI, 2005).

Embora o destino e transporte dos contaminantes emergentes no meio ambiente ainda não sejam totalmente conhecidos, sabe-se que uma vez presente em rios, lagos ou outros ambientes aquáticos superficiais, esses poluentes podem chegar até a água tratada, comprometendo o abastecimento de água potável e podendo nesse caso trazer prejuízos também à saúde dos seres humanos (PAL *et al.*, 2010). Um esquema resumido de possíveis rotas de aporte de contaminantes emergentes no meio ambiente a partir de fontes pontuais é apresentado na Figura 1.

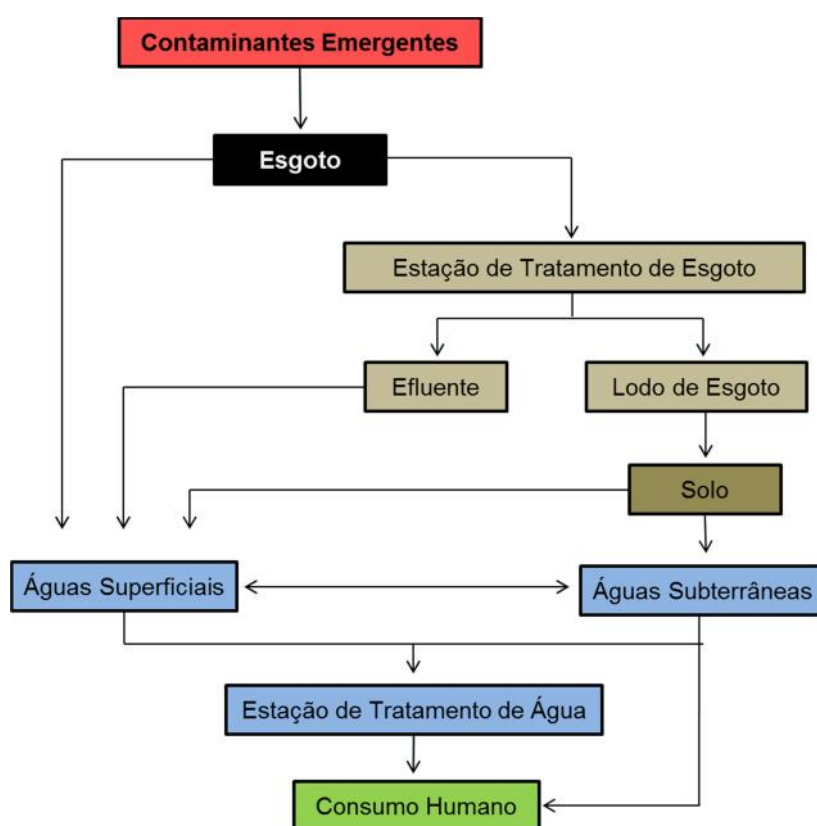


Figura 1 – Vias de aporte, transporte e destino de contaminantes emergentes no meio ambiente. Adaptado de: (CANELA *et al.*, 2014).

A presença de contaminantes emergentes em ambientes aquáticos e a concentração encontrada, principalmente em águas superficiais, são limitadas por muitos fatores como sorção, diluição, complexação, fotólise e biotransformações. Contudo, a carga de poluentes biológicos ou químicos que aportam no meio ambiente pode ser diminuída quando esses são oriundos de efluentes, seja industrial ou doméstico, que recebem tratamentos adequados antes de serem

lançados novamente nos ambientes aquáticos (GAVRILESCU *et al.*, 2015; VERA-CANDIOTI *et al.*, 2008).

Estudos mostram que as concentrações de alguns contaminantes emergentes em efluentes de estações de tratamento de esgoto doméstico variam amplamente. Os fatores responsáveis por essa variação podem estar relacionados com a população e o padrão de consumo de um dado local ou ainda com as características de uma dada região, se é industrial ou agrícola, por exemplo. Esses fatores irão influenciar na carga e na diversidade de poluentes nos efluentes gerados. Pode também variar em função da eficiência de tratamento das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) e ainda em função da importância dada às questões relacionadas ao saneamento básico em uma determinada localidade (GAVRILESCU *et al.*, 2015; ORT *et al.*, 2010; PAL *et al.*, 2010).

O fato é que as informações e o conhecimento relacionados à natureza e variabilidade dos contaminantes emergentes tanto em estações de tratamento de esgoto quanto em estações de tratamento de água precisa ainda ser explorada.

A presença de contaminantes emergentes em águas que podem ser utilizadas para o abastecimento da população pode trazer riscos principalmente a saúde humana e por isso o desenvolvimento e aplicação de novas tecnologias, não somente para o tratamento de efluentes, mas também para o tratamento da água que será destinada ao abastecimento da população é importante e urgente (PARKER, 2011).

Nesse sentido, ainda há poucos estudos dedicados a monitorar e compreender as diferenças entre a utilização de processos convencionais ou processos inovadores tanto no tratamento de esgoto quanto no tratamento de água, e o impacto e a relação disso com a presença dos contaminantes emergentes no meio ambiente (PARKER, 2011). Mesmo em países que possuem melhores condições de saneamento, os contaminantes emergentes são frequentemente detectados em rios, lagos e demais corpos d'água (BI *et al.*, 2012; KASPRZYK-HORDERN; DINSDALE; GUWY, 2008; LAPWORTH *et al.*, 2012; PAL *et al.*, 2010; VELICU; SURI, 2009). Isso porque muitas dessas substâncias não são totalmente eliminadas pela maioria dos processos de tratamento empregados nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) ou nas Estações de Tratamento de Água (ETA) (ANDREWS; MASONER; COZZARELLI, 2012; BUENO *et al.*, 2012).

Como a remoção e a prevenção do aporte de contaminantes emergentes no meio ambiente ainda é uma questão difícil de ser solucionada, a detecção e a avaliação da presença desses poluentes em matrizes aquáticas é muito relevante. Nesse sentido, as águas superficiais usadas como fonte de abastecimento da população e a água tratada requerem uma atenção especial visto que, a presença desses contaminantes além de poder ocasionar riscos adversos ao ecossistema e a saúde dos seres humanos, dificultam também a sustentabilidade do ciclo da água e consequentemente a gestão dos recursos hídricos.

Dado o grande número de substâncias químicas que podem ser classificadas como contaminante emergente é comum à seleção de alguns compostos ou algumas classes de compostos para o monitoramento ou desenvolvimento de protocolos analíticos para determinação desses contaminantes no meio ambiente.

Algumas substâncias se destacam em função do seu potencial tóxico, persistência no meio ambiente, sua ampla utilização ou por fazer parte de listas de poluentes prioritários que requerem atenção. Nesse sentido, serão apresentados nesta revisão, de forma mais detalhada, aquelas substâncias que foram selecionadas para otimização do protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS. Foram contemplados nesse trabalho os alquilfenóis (octilfenol e nonilfenol), o herbicida atrazina, o plastificante bisfenol A, o triclosan que é encontrado em produtos de higiene pessoal, hormônios naturais e sintéticos como o 17^o -estradiol, estrona, estriol, progesterona, testosterona e 17^o -etinilestradiol, os fármacos ibuprofeno e paracetamol, além da cafeína, que é utilizada como um traçador químico da contaminação de águas pelo aporte de esgoto doméstico.

3.1.2 Alquilfenóis

Os alquilfenóis são fenóis com grupos alquila de diferentes tipos e tamanhos ligados ao anel aromático. Os derivados mais importantes desses compostos são os alquilfenóis polietoxilados e os carboxilados.

Os alquilfenóis polietoxilados são surfactantes (não iônicos) amplamente empregados na manufatura de diversos produtos industriais, tais como sabões e detergentes de uso industrial e domésticos, óleos lubrificantes, tintas, cosméticos, entre outros. A produção mundial/ano é estimada em mais de 500.000 toneladas. Desse total 80 % são de nonilfenol etoxilado e 20 % de octilfenol etoxilado (GALLART-AYALA; MOYANO; GALCERAN, 2010).

A ampla utilização dos surfactantes está associada à presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, que faz com que esses compostos apresentem características únicas que os permitem se distribuir nas interfaces entre fases fluídas com diferentes graus de polaridade (óleo/água e água/óleo) (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Contudo, devido a grande produção e emprego para as mais diversas finalidades, estima-se que cerca de 60 % dos alquilfenóis produzidos e utilizados acabam sendo lançados no meio ambiente (RAIMUNDO, 2007).

A degradação dos alquilfenóis polietoxilados em Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) normalmente é incompleta podendo levar a geração de alquilfenóis de cadeia mais curta que podem ser mais tóxicos e mais persistentes no meio ambiente. Sob condições aeróbicas tem-se a formação de alquilfenóis mono- e di-etoxilados, enquanto em condições anaeróbicas são formados principalmente os di-etoxilados. Os subprodutos mais comuns dessa degradação como o nonilfenol (NON) e octilfenol (OCT) apresentam alto potencial estrogênico, ou seja, são capazes de se ligar a receptores hormonais podendo assim alterar o funcionamento normal do sistema endócrino (GALLART-AYALA; MOYANO; GALCERAN, 2010). A estrutura molecular desses dois compostos é apresentada na Figura 2.



Figura 2 – Estruturas moleculares do (a) nonilfenol e (b) octilfenol

Tanto nonilfenol quanto octilfenol são frequentemente detectados em ambientes aquáticos. Normalmente as concentrações observadas são baixas, porém

os efeitos adversos atribuídos a essas substâncias podem ser observados até mesmo em baixas concentrações. Ribeiro *et al.* (2009), por exemplo, identificaram a presença de octilfenol numa concentração de $2,0 \text{ ng L}^{-1}$ em águas superficiais em Portugal. Lara-Martín e colaboradores (2014) avaliaram a presença desses contaminantes emergentes em águas superficiais no entorno da cidade de Nova York e determinaram tanto octilfenol quanto nonilfenol em concentrações que variaram de $1,4$ a $4,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

3.1.3 Atrazina

O consumo de herbicidas corresponde a quase metade do volume de vendas de agrotóxicos. Nesse cenário, a atrazina tem ganhado destaque uma vez que seu emprego mundial é estimado em cerca de 70.000 toneladas/ano (PEIXOTO *et al.*, 2005).

No Brasil, a atrazina (ATZ) é um dos herbicidas mais consumidos, sendo empregada principalmente nas culturas de cana-de-açúcar e milho, as quais ocupam, respectivamente, o segundo e o terceiro lugar na produção anual nacional. Somente estas duas culturas são responsáveis por quase 37 % do consumo desse herbicida no país (IBAMA, 2012). A estrutura molecular da atrazina é apresentada na Figura 3.

Muitos agrotóxicos tem seu uso proibido, pois são substâncias com alta capacidade de persistir no meio ambiente, podendo ainda gerar metabólitos biologicamente ativos e até mesmo mais tóxicos que o composto de origem. O uso da atrazina, por exemplo, é proibido em alguns países como Reino Unido e Estados Unidos há décadas (MNIF *et al.*, 2011; STUART *et al.*, 2012). Contudo, no Brasil, a utilização de atrazina ainda é permitida e devido ao uso intensivo desse herbicida e da sua considerável mobilidade nos solos, vem sendo detectado em águas superficiais, subterrânea e até mesmo na água tratada (CALDAS *et al.*, 2013; DE ARMAS *et al.*, 2007).

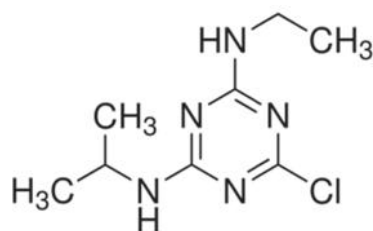


Figura 3 – Estrutura molecular da Atrazina

A presença dessa substância em águas superficiais está diretamente relacionada à lixiviação do solo em lavouras onde esse herbicida é aplicado e por isso, pode ser sazonal. Uma das principais vias de exposição do homem a atrazina é por meio da ingestão de água tratada, uma vez que os processos de tratamento de água em geral não são capazes de remover totalmente esse herbicida. (DE ÁVILA *et al.*, 2009).

O Ministério da Saúde por meio da portaria nº 2914 (MS, 2011) que dispõe sobre os procedimentos de controle da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, regulamenta que o valor máximo permitido (VMP) para atrazina na água potável é $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Entretanto, esse limite é estabelecido com base em estudos toxicológicos não levando em consideração outros efeitos nocivos que a atrazina pode causar, como por exemplo, o fato de ser considerado um interferente endócrino com alto potencial tóxico mesmo em baixas concentrações (ATSRD, 2003; VERLIEFDE *et al.*, 2007; MNIF *et al.*, 2011).

3.1.4 Bisfenol A

Os plastificantes são aditivos que aumentam a flexibilidade, a resistência e a maleabilidade dos materiais aos quais eles são adicionados. Os principais plastificantes utilizados pela indústria são os ftalatos e o bisfenol A (SODRÉ *et al.*, 2007). Este último é empregado como agente plastificante principalmente na produção de resinas epóxi e policarbonatos. As resinas epóxis são muito utilizadas no revestimento de pavimentos industriais, no revestimento interno de embalagens metálicas de alimentos e bebidas, na fabricação de tintas, entre outros. O

polycarbonato também é amplamente utilizado, principalmente na manufatura de produtos médicos bem como na produção de embalagens para produtos alimentícios e bebidas (AZEVEDO *et al.*, 2001).

A produção anual de bisfenol A (BISA) é superior a 3,5 milhões de toneladas/ano (ACC, 2012). Dado o volume produzido mundialmente e o fato de ser um produto com diversas aplicações, é provável que o aporte de bisfenol A no meio ambiente ocorra por meio de diferentes fontes, tais como, descargas de efluentes industriais sem tratamento adequado ou lixiviação a partir dos produtos finais de consumo, por exemplo, através do contato da água com tubulações e revestimentos que contenham o bisfenol A (COUSINS *et al.*, 2002). A estrutura molecular do bisfenol A é mostrada na Figura 4.

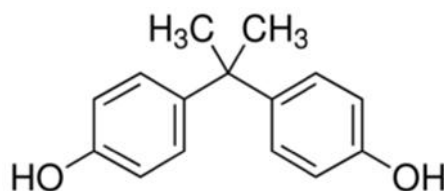


Figura 4 – Estrutura molecular do bisfenol A

Devido à sua ampla utilização o BISA é frequentemente detectado em águas superficiais podendo assim chegar até a água tratada. Gong *et. al* (2009), investigaram a presença de contaminantes emergentes em águas superficiais no Sul da China e encontraram bisfenol A em 100 % das amostras avaliadas em concentrações que variaram de 43,5 a 639,1 ng L⁻¹. No Brasil, Sodré *et. al* (2007) determinaram bisfenol A no Rio Atibaia localizado em Campinas, SP. A frequência de detecção foi de 33 % em concentrações que variaram de 5,0 ng L⁻¹ a 1760 ng L⁻¹. Em outro trabalho realizado também na cidade de Campinas, Sodré e colaboradores (2010a) encontraram bisfenol A na água tratada em 100 % das amostras analisadas, nesse caso a concentração média determinada foi de 160 ng L⁻¹.

Estudos a respeito da atividade estrogênica do bisfenol A sugerem que ele pode atuar como interferente endócrino mesmo quando em concentrações muito baixas como aquelas comumente determinadas em matrizes aquáticas (NAM; SEO; KIM, 2010).

3.1.5 Triclosan e Metil-Triclosan

O triclosan (TCS), cuja estrutura molecular é apresentada na Figura 5 é uma substância muito utilizada como agente antimicrobiano em uma variedade de produtos de higiene pessoal, tais como xampus, sabonetes, cremes dentais e em muitos outros cosméticos. Pode ainda estar presente em formulações de produtos de limpeza doméstica, em têxteis e plásticos, tais como roupas esportivas, calçados, tapetes e utensílios culinários devido às suas propriedades desinfetantes (FDA, 2013; KATZ *et al.*, 2013).

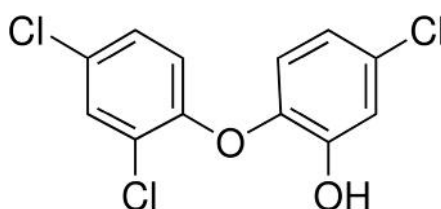


Figura 5 – Estrutura molecular do Triclosan

Em função dessa ampla aplicação o TCS tem sido detectado em ambientes aquáticos em diversos países. Na Espanha, foi detectado em águas superficiais na região de Galícia, na concentração média de 10 ng L^{-1} (RODIL *et al.*, 2012). Foi determinado também em mananciais no entorno de Rhode Island (EUA) em concentrações que variaram de $0,5$ a $9,0 \text{ ng L}^{-1}$ (KATZ *et al.*, 2013). No Brasil, um estudo avaliou a presença de TCS em rios localizados no estado de São Paulo. De 71 amostras coletadas nesse estudo, 32 apresentaram resultado positivo para o triclosan em concentrações variando de $2,2$ a 60 ng L^{-1} (MONTAGNER *et al.*, 2014a).

Estudos mostram que o TCS é tóxico para micro-organismos aquáticos como, fitoplânctons e microalgas e também para peixes e diversas espécies de invertebrados aquáticos. Esse composto também é capaz de interferir no sistema endócrino de outras espécies de animais inclusive em seres humanos e, além disso, tem sido apontado como suspeito de contribuir para tornar bactérias resistentes a antibióticos (ISHIBASHI *et al.*, 2004; LOZANO *et al.*, 2010; ORVOS *et al.*, 2002).

A principal fonte de aporte de TCS no meio ambiente, principalmente em águas superficiais, é por meio do lançamento de esgoto doméstico, mesmo após tratamento, pois a eficiência de remoção de TCS em uma ETE pode variar de 58 a 99 % dependendo da tecnologia empregada no tratamento (KATZ *et al.*, 2013).

Quando presente em águas superficiais, uma fração do TCS pode permanecer na coluna d'água, pois é relativamente solúvel em água ($\log K_{ow} = 4,8$), enquanto a maior parte deve ser adsorvida pela matéria orgânica (KATZ *et al.*, 2013). Tem ainda a capacidade de absorver radiação solar e por isso é suscetível a sofrer fototransformação. Nesses casos pode gerar subprodutos de maior toxicidade, como dioxinas e um de seus principais metabólitos, o metil-triclosan (MTCS) (BUTH *et al.*, 2009). A estrutura molecular do metil-triclosan é apresentada na Figura 6.

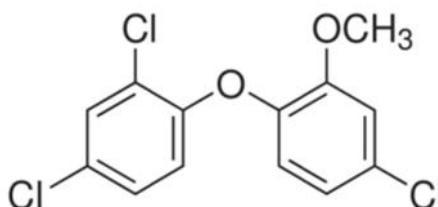


Figura 6 – Estrutura molecular do Metil-triclosan

O MTCS ($\log K_{ow} = 5,2$) tem caráter mais lipofílico e é mais persistente no ambiente que o TCS. Sendo assim, tem maior capacidade de bioacumulação podendo ser mais tóxico que o TCS para micro-organismos e espécies aquáticas (COOGAN *et al.*, 2007).

3.1.6 Hormônios

Os hormônios naturais são substâncias químicas produzidas e secretadas pelas glândulas endócrinas e, uma vez lançados na corrente sanguínea, vão coordenar o funcionamento do organismo como um todo. São eles que regulam o crescimento e o desenvolvimento de um organismo, os níveis de sal, açúcar e líquido no sangue, o sistema reprodutor, as características sexuais, o metabolismo, entre outros. Hoje em dia, entretanto, há muitos hormônios sintetizados em

laboratório (não naturais) e que estão presentes em formulações farmacêuticas prescritas para diversos fins, tais como contraceptivos e terapias de reposição hormonal (GHISELLI; JARDIM, 2007).

Quimicamente, os hormônios são proteínas derivadas de aminoácidos ou esteroides. Os esteroides compreendem um grande grupo de compostos como os hormônios e seus precursores, cuja fórmula estrutural básica é formada pelo ciclo[a]fenantreno, mostrado na Figura 7. Nessa estrutura podem existir ligações duplas, metilas, carbonilas e hidroxilas, dando origem a uma série de hormônios esteroidais como os androgênios, estrogênios e progestagênios (RAIMUNDO, 2007).

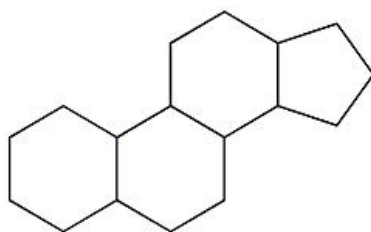


Figura 7 – Estrutura básica dos esteroides

Os androgênios são os hormônios esteroidais responsáveis pelo desenvolvimento das características masculinas. O principal hormônio dessa classe é a testosterona. Por outro lado, os estrogênios são os hormônios sexuais responsáveis pelo desenvolvimento das características femininas e funções de reprodução. Os principais estrogênios naturais são o 17 -estradiol, a estrona e o estriol.

Outra classe de hormônios predominantemente femininos são os progestagênios, tendo como principal hormônio a progesterona. Os progestagênios são hormônios que ajudam a regular as mudanças que ocorrem durante a menstruação, influenciam no desenvolvimento das membranas fetais e glândulas mamárias durante a gestação e por isso são conhecidos também como hormônios da gravidez (RAIMUNDO, 2007).

Quanto aos hormônios esteroidais sintéticos, destacam-se o 17 -etinilestradiol derivado do 17 -estradiol que é utilizado como contraceptivo. A presença de hormônios em águas naturais também está associada ao descarte de

efluente doméstico sem tratamento, já que essas substâncias são excretadas através da urina e das fezes.

As estruturas químicas dos hormônios investigados nesse estudo são apresentadas na Figura 8.

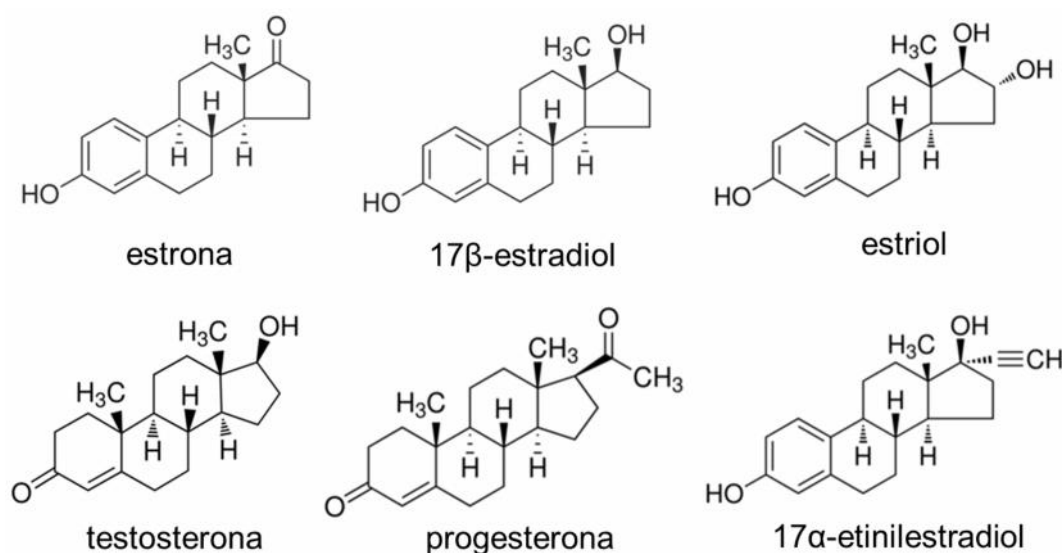


Figura 8 – Estruturas moleculares de alguns hormônios esteroides

3.1.7 Cafeína

A cafeína, cuja estrutura molecular é mostrada na Figura 9, é um alcalóide presente em cerca de 60 espécies de plantas, sendo uma das substâncias mais consumidas no mundo. Além do café, esse alcalóide está presente em vários produtos alimentícios como chás, guaraná, achocolatados e tabaco. Ela pode ainda ser encontrada em alguns condimentos e em formulações farmacêuticas tais como analgésicos, antigripais e inibidores de apetite. A cafeína é absorvida e distribuída facilmente no organismo passando rapidamente para o sistema nervoso central e assim produz um estado de alerta de curta duração (BUERGE *et al.*, 2003). O consumo moderado de cafeína não está associado a nenhum risco à saúde. Só há restrições quanto ao consumo em alguns casos especiais, como na gestação ou por indivíduos com problemas de hipertensão (DAVIES *et. al*, 2012).

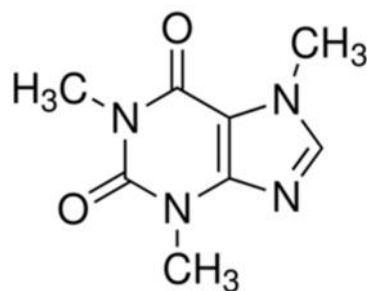


Figura 9 – Estrutura molecular da cafeína

A presença de cafeína tanto em mananciais quanto na água tratada vem sendo usada como traçador de contaminação por esgoto doméstico em substituição a outros marcadores biológicos como o *Escherichia Coli* (*E. Coli.*). A cafeína é estável e bastante solúvel em água e por isso é considerada um marcador químico sensível e específico que pode ser detectado rapidamente devido às altas concentrações encontradas no esgoto (FROEHNER *et al.*, 2010). Além destes aspectos, a cafeína pode ainda ser utilizada com um importante marcador para avaliar a estrogenicidade de uma dada matriz. Amostras de águas naturais avaliadas quanto à presença de cafeína apresentaram resultados positivos frente a ensaios de atividade estrogênica (MONTAGNER *et al.*, 2014b).

3.1.8 Fármacos

Trata-se de um grupo de compostos bastante heterogêneo, com ampla variedade de moléculas com diferentes estruturas e massa molar e que apresentam diferentes funcionalidades. Os fármacos são desenvolvidos e utilizados para aplicações e atividades biológicas específicas, dependendo da classe terapêutica a qual pertence (analgésicos, antitérmicos, anti-inflamatórios, antibióticos, antidepressivos, corticosteróides, entre outros) (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011).

Estima-se que o consumo mundial anual per capita de produtos farmacêuticos é de aproximadamente 15,0 g. Esse valor pode ser de 3 a 10 vezes maior, ou seja, de 50 a 150 g anual per capita em países desenvolvidos (PAL *et al.*,

2010). No entanto, o Brasil embora considerado um país emergente, está entre os maiores consumidores de fármacos do mundo ao lado de países como Alemanha e Estados Unidos (DA SILVA; COLLINS, 2011; ZHANG; GEISSEN; GAL, 2008).

Após administração, os fármacos são metabolizados no organismo a fim de servir a um propósito terapêutico. Porém, parte da dose administrada é excretada inalterada e através do efluente doméstico ou hospitalar, acaba alcançando os ambientes aquáticos (BILA; DEZOTTI, 2003). Alguns fármacos podem persistir no meio ambiente, e seja através da cadeia alimentar ou através da ingestão de água, a exposição de algumas espécies e mesmo dos seres humanos é inevitável (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011).

Alguns fármacos só podem ser comercializados com prescrição médica, mas muitos deles como é o caso de alguns anti-inflamatórios e analgésicos, podem ser comercializados livremente em alguns países, como no Brasil, e por isso são normalmente consumidos de forma deliberada. Sendo assim, a avaliação da presença de fármacos pertencentes a essas classes em ambientes aquáticos é importante, pois as quantidades lançadas no meio ambiente podem ser significativas. Esse é o caso dos fármacos, Ibuprofeno e paracetamol, que tem propriedade anti-inflamatória e analgésica, respectivamente, e são muito consumidos.

O ibuprofeno, cuja estrutura molecular é apresentada na Figura 10 é um anti-inflamatório não-esteroidal (AINES), mas que também apresenta propriedades analgésicas sendo utilizado frequentemente no alívio de dores de cabeça e febre, entre outros, sendo um dos fármacos mais consumidos dessa classe de anti-inflamatórios. Está entre os fármacos com maior frequência de detecção de acordo com estudos que avaliaram a presença desse composto em ambientes aquáticos (BOLEDA; GALCERAN; VENTURA, 2013; FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011).

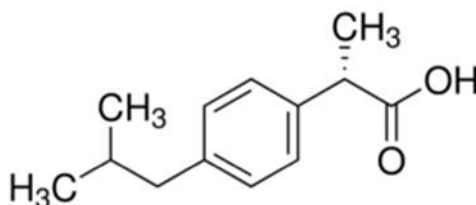


Figura 10 – Estrutura molecular do Ibuprofeno

O paracetamol é um analgésico-antipirético muito utilizado, uma vez que está presente na composição de uma série de medicamentos utilizados, por exemplo, no alívio de sintomas de gripe, dores de cabeça, etc. É um dos analgésicos mais vendidos no Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2009). A estrutura molecular do paracetamol é apresentada na Figura 11.

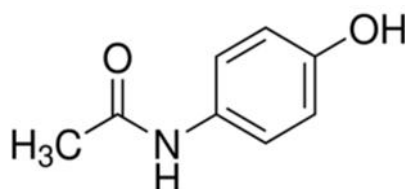


Figura 11 – Estrutura molecular do Paracetamol

Diversos estudos vêm detectando tanto o ibuprofeno quanto o paracetamol em águas. Em estudo realizado no Brasil, Stumpf *et. al* (1999) detectaram ibuprofeno em águas do rio Paraíba do Sul, no estado do Rio de Janeiro, em concentrações abaixo de 10 ng L^{-1} . Montagner e Jardim (2011), determinaram ibuprofeno em águas do Rio Atibaia, o qual é utilizado para o abastecimento de aproximadamente 1,0 milhão de pessoas na cidade de Campinas, SP. A concentração média encontrada foi de 51 ng L^{-1} . Nesse mesmo estudo foi determinada a presença de paracetamol em concentrações que variaram de 34 ng L^{-1} até $13,44 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Sodré *et. al.* (2007) em um estudo anterior também haviam determinado paracetamol em águas do Rio Atibaia em concentrações média de $84,0 \text{ ng L}^{-1}$.

3.1.9 Efeitos ecotoxicológicos

Os efeitos adversos que os contaminantes emergentes podem ocasionar tanto ao meio ambiente quanto a saúde dos seres vivos ainda não são totalmente conhecidos. Entretanto, alguns estudos vêm mostrando que muitos desses poluentes podem atuar como interferentes endócrinos (IE), ou seja, podem interagir com um receptor hormonal e alterar o metabolismo de um determinado hormônio em

um órgão pertencente ao sistema endócrino. Podem ainda, danificar ou alterar diretamente um órgão endócrino e suas funções (BILA; DEZOTTI, 2007).

Outros efeitos associados à exposição de espécies animais a contaminantes emergentes estão relacionados com alterações no sistema imunológico de mamíferos marinhos, feminização de peixes machos, indução da síntese de vitelogenina e problemas no sistema reprodutivo de moluscos, répteis, pássaros e mamíferos. Em alguns casos, essas alterações podem conduzir até mesmo ao declínio das populações (SUMPTER, 2005). Em seres humanos, os efeitos incluem o aumento da incidência de câncer de mama, testículo e próstata, redução da quantidade de espermatozoides, infertilidade e endometriose (LARSSON *et al.*, 1999; MENDOZA-RODRÍGUEZ *et al.*, 2011; SUMPTER; JOHNSON, 2005; WARING; HARRIS, 2005).

Embora a concentração encontrada no meio ambiente para maioria das substâncias classificadas como contaminantes emergentes é normalmente muito baixa, variando normalmente de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} , ou até menores, a exposição dos seres vivos a esses contaminantes tem sido apontada como potencialmente perigosa. Isso porque alterações no sistema endócrino, sistema reprodutivo e outros efeitos tóxicos, estão associados justamente à exposição a baixas concentrações desses contaminantes (BILA; DEZOTTI, 2007; ZUO; ZHANG; LIN, 2007).

Espécies aquáticas são uma das que mais sofrem com a exposição aos contaminantes emergentes, pois os ambientes aquáticos também estão em constante exposição frente a esses contaminantes, principalmente aqueles que recebem o aporte de efluentes (POMATI *et al.*, 2006 ;VERA-CANDIOTI *et al.*, 2008).

Várias espécies de peixes têm sido avaliadas em estudos que investigam os efeitos adversos dos contaminantes emergentes, pois muitos desses contaminantes são facilmente absorvidos pelo organismo dos peixes e também de outras espécies aquáticas (SANCHEZ *et al.*, 2011; WARING; HARRIS, 2005). Plastificantes, por exemplo, podem afetar a reprodução de peixes, enquanto que compostos como nonilfenol e octilfenol estão associados ao aumento na taxa de mortalidade, a redução na capacidade reprodutiva e a indução da síntese de vitelogenina em peixes machos (WARING; HARRIS, 2005).

Contudo, para outras espécies não aquáticas também já foi demonstrado relação causa-efeito dos contaminantes emergentes. Ishikawa (2005) relata, por exemplo, uma possível relação entre o aumento de doenças alérgicas e autoimunes

como consequência da exposição ambiental aos contaminantes emergentes. Em outro estudo foi demonstrado que o bisfenol A apresentou um efeito estrogênico agonista que induz a alterações nos sistemas reprodutivos de ratos, após administração de água contendo bisfenol A (MENDOZA-RODRÍGUEZ *et al.*, 2011).

Embora os estudos de efeitos adversos em seres humanos ainda sejam escassos, é importante considerar que qualquer substância que venha a provocar um efeito tóxico a uma determinada espécie é potencialmente capaz de afetar a espécie humana também. Isso reforça o entendimento de que a geração de dados quantitativos a respeito da concentração dos contaminantes emergentes no meio ambiente é de extrema importância. Entretanto, é igualmente necessário relacionar os potenciais riscos desses poluentes com as concentrações encontradas. Para isso, além de informações sobre presença e concentração desses contaminantes no meio ambiente é desejável também a análise dos efeitos biológicos e bioquímicos, a fim de poder avaliar o impacto desses poluentes na biota e na saúde humana (FONTENELE *et al.*, 2010; GAVRILESCU *et al.*, 2015; WARING; HARRIS, 2005).

3.1.10 Legislação

O estabelecimento de padrões para a presença de contaminantes emergentes é ainda um problema a ser resolvido, pois a avaliação do impacto em longo prazo da exposição da biota e dos seres humanos a baixos níveis desses poluentes ainda não é conhecido. A dificuldade da padronização de um método analítico capaz de identificar um grande número de micropoluentes em baixas concentrações em matrizes complexas, como as ambientais, também é apontado como uma dificuldade na criação de normas ou legislações (GAVRILESCU *et al.*, 2015).

Algumas iniciativas no sentido de estabelecimento de padrões para a presença de contaminantes emergentes em águas são observadas nos Estados Unidos e também em alguns países da Europa por iniciativa da União Européia (EU, do inglês *European Union*).

A União Européia tem apresentado estratégias para minimizar a poluição aquática relacionada com a presença de micropoluentes através do estabelecimento

de programas de monitoramento e regulamentação do uso e disposição de alguns desses poluentes. Nesse sentido, em 2001 criou uma lista preliminar de poluentes prioritários contendo algumas substâncias consideradas potencialmente perigosas para o ambiente e para a saúde humana. Essa primeira lista foi ampliada e substituída por uma mais abrangente em 2008 e uma última atualização foi publicada em 2011, onde foram incluídas mais 41 substâncias, tais como a atrazina, nonilfenol e octilfenol (PADRÓN *et al.*, 2014; UE, 2008).

O controle de entrada de produtos farmacêuticos provenientes de efluentes de estações de tratamento de esgoto em ambientes aquáticos também vem sendo regulamentado na Europa pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA, do inglês, *European Medicine Agency*) devido à preocupação com a liberação de medicamentos para o meio ambiente (EMA, 2006; FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011).

Nos Estados Unidos, a U.S. EPA estabeleceu uma lista contendo 116 substâncias consideradas contaminantes prioritários. São 104 substâncias químicas incluindo hormônios (17 -estradiol, estrona, estriol, 17 -etinilestradiol, mestranol), agrotóxicos (acetochlor, diuron), fármacos (eritromicina) e diversos produtos de uso industrial além de 12 contaminantes biológicos. Essa lista tem a finalidade de direcionar o levantamento de informações a respeito da presença desses contaminantes em águas e orientar tomadas de decisão no sentido de estabelecer estratégias para minimizar a contaminação das águas e obter referências para a alteração ou estabelecimento de regulamentos para a presença de contaminantes emergentes em água potável (USEPA, 2009). Algumas iniciativas regionais podem ser destacadas ainda nos Estados Unidos, como a do Departamento de Proteção Ambiental de Nova Iorque, que realizou um projeto piloto para a coleta e análise de águas superficiais aos arredores da cidade de Nova Iorque durante um período de um ano para monitoramento de produtos farmacêuticos nessas águas. O intuito desse projeto é gerar dados para estabelecer padrões para presença de fármacos em águas utilizadas como fonte de abastecimento de água potável para a população de Nova Iorque (NYCDEP, 2010).

No Brasil, ainda não há iniciativas por parte das agências reguladoras no sentido de realizar monitoramento dos contaminantes emergentes em ambientes aquáticos e na água potável. A inclusão desses contaminantes na legislação brasileira ainda é um assunto que requer o compromisso tanto por parte dos órgãos

regulamentadores quanto por parte dos governos, seja federal, estadual ou municipal.

Para monitoramento e estabelecimento de padrões para contaminantes emergentes em ambientes aquáticos é necessário um trabalho abrangente que inclui o desenvolvimento de métodos analíticos padronizados e validados que possam ser empregados na determinação desses contaminantes em matrizes aquáticas, a necessidade de avaliações de toxicidade crônica, ou seja, aquela relacionada a longos períodos de exposição a baixas concentrações e não somente relacionados à toxicidade aguda, entre outros (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011; GAVRILESCU *et al.*, 2015).

3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGADOS NA DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES

Os contaminantes emergentes vêm sendo incorporados ao meio ambiente ao longo de décadas. Entretanto, somente a partir do avanço de técnicas analíticas capazes de mensurar concentrações a nível traço e do desenvolvimento de novos métodos capazes de detectar e quantificar um número cada vez maior de compostos é que muitos poluentes até então negligenciados começaram ser detectados em diferentes matrizes, dentre elas, a água.

As técnicas de separação como a cromatografia líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*) e a cromatografia gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) são atualmente as mais empregadas na determinação de contaminantes emergentes em matrizes aquáticas. No entanto, para fins analíticos, é necessário o acoplamento com algum detector que será capaz de promover a quantificação da(s) substância(s) de interesse. Vários tipos de detectores podem ser acoplados as técnicas de separação, mas quando são requeridos limites de detecção e quantificação muito baixos, os espectrômetros de massas (MS, do inglês *Mass Spectrometer*) são sem dúvida os mais empregados (PEDROUZO *et al.*, 2011).

Quanto à escolha entre LC e GC vai depender das características físico-químicas das substâncias que se deseja determinar conforme demonstrado no diagrama apresentado na Figura 12.

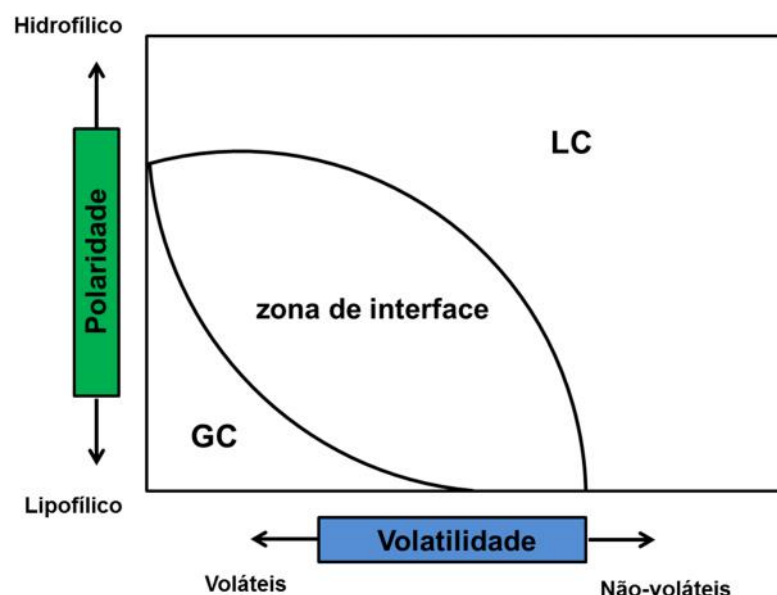


Figura 12 – Diagrama de polaridade-volatilidade que mostra a tendência para escolha entre as técnicas de LC ou GC de acordo com as características físico-químicas de uma determinada substância. Adaptado de: (DA SILVA; COLLINS, 2011).

A técnica de LC-MS, por exemplo, é empregada na análise de amostras que contenham substâncias de caráter mais polar, menos voláteis ou ainda aquelas que sejam instáveis termicamente (DA SILVA; COLLINS, 2011). Tem como vantagens os baixos limites de detecção atingidos (ng L^{-1} a pg L^{-1}), robustez e sensibilidade. Mas por outro lado é importante considerar que a linearidade, sensibilidade e precisão dos métodos analíticos baseados em LC-MS podem ser afetadas em função dos efeitos de matriz que podem prejudicar a quantificação de substâncias de interesse em matrizes mais complexas dependendo do tipo de ionização empregada na interface cromatógrafo-espectrômetro de massas (CASTIGLIONI *et al.*, 2008 ;DAMS *et al.*, 2003). As fontes de ionização por *electrospray*, que são as mais utilizadas, são bastante suscetíveis aos efeitos de matriz. Tais efeitos podem suprimir o sinal do analito prejudicando assim a quantificação (DAMS *et al.*, 2003).

Se a escolha for para o uso da técnica de cromatografia gasosa, é necessário que os analitos sejam voláteis e termicamente estáveis. Contudo, substâncias de baixa volatilidade também podem ser determinadas via GC-MS desde que submetidas a uma reação de derivatização, onde um ou mais grupos funcionais da molécula são modificados com o intuito de aumentar sua volatilidade e melhorar a detecção (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011). As fontes de

ionização por impacto de elétrons (EI, do inglês *Electron Impact*) são normalmente as mais utilizadas na determinação de contaminantes emergentes por GC-MS embora a ionização química (CI, do inglês *Chemical Ionization*) seja às vezes empregada também (GALLART-AYALA; MOYANO; GÁLGERAN, 2010; KUCH; BALLSCHMITER, 2001).

Quanto aos analisadores de massas são utilizados, por exemplo, os quadrupólos, ou ainda os triplo quadrupólos (QqQ) para o modo sequencial (*tanden*), os analisadores por tempo de voo (TOF, do inglês *time of flight*) e também os do tipo armadilha de íons, conhecidos pelo termo em inglês *Íon Trap*. Atualmente os analisadores híbridos compostos de quadrupólo e analisador por tempo de voo (Q-TOF) vêm sendo empregados também possibilitando uma melhora na resolução e detectabilidade quando comparado aos quadrupólos tradicionais (DA SILVA; COLLINS, 2011).

O acoplamento das técnicas cromatográficas com a espectrometria de massas trouxe um ganho na capacidade de identificação de substâncias em matrizes complexas, como nos casos onde há coeluição na cromatografia, mas se consegue diferenciar e identificar cada componente através da espectrometria de massas, além de permitir a quantificação das espécies de interesse.

Vários trabalhos utilizando tanto as técnicas de LC-MS quanto a GC-MS vêm sendo descritos na literatura nos últimos anos para análise de contaminantes emergentes em matrizes aquáticas. Kasprzyk-Horden, Dinsdale e Guwy (2008), por exemplo, investigaram a presença de contaminantes emergentes no rio Taff e Ely na região sul do País de Gales, Reino Unido, com o objetivo de avaliar o nível de contaminação dessas águas superficiais. A técnica empregada no estudo foi a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) e os limites de detecção e quantificação obtidos variaram de 0,05 a 20,0 ng L⁻¹ e 0,3 a 60 ng L⁻¹, respectivamente. As investigações foram realizadas em um período de 10 meses e os resultados obtidos revelaram a presença de 52 substâncias poluentes nessas águas, tais como, amoxicilina, paracetamol, ibuprofeno, triclosan, bisfenol A, octilfenol, além de drogas ilícitas como anfetaminas e cocaína. Segundo os autores esse trabalho fez parte do primeiro projeto no Reino Unido para investigar um grande grupo de poluentes emergentes de forma extensiva e abrangente, visando proporcionar uma melhor compreensão dos fatores que afetam os níveis de concentração dessas substâncias em águas superficiais.

Em outro estudo, Hibberd e colaboradores (2009) otimizaram um método empregando GC-MS/MS para determinação de sete contaminantes emergentes (bisfenol A, octilfenol, nonilfenol, estrona, estradiol, etinilestradiol e hidroxiestrona) em água e também em sedimento. O método apresentou boa sensibilidade para todos os analitos investigados e alcançou baixos limites de detecção e quantificação tanto para as amostras de água (LD: 0,01 a 0,49 ng L⁻¹ e LQ: 0,04 a 1,63 ng L⁻¹), quanto para as amostras de sedimento (LD: 0,05 a 0,14 ng L⁻¹ e LQ: 0,17 a 0,47 ng L⁻¹). O método foi aplicado na determinação de contaminantes emergentes em amostras de água e sedimento do rio Medway, no Reino Unido. Na água os compostos encontrados em maior concentração foram octilfenol e bisfenol A, 37,6 e 69,3 ng L⁻¹, respectivamente.

Outro método empregando a cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) foi desenvolvido por Sodré e colaboradores (2010a) para determinação de contaminantes emergentes em água tratada. Os limites de detecção ficaram entre 0,03 a 0,11 µg L⁻¹ enquanto os limites de quantificação variaram de 0,10 a 0,36 µg L⁻¹. Bisfenol A (0,16 µg L⁻¹), cafeína (0,22 µg L⁻¹), colesterol (0,27 µg L⁻¹) e stigmasterol (0,34 µg L⁻¹) foram encontrados em amostras de água tratada coletadas na cidade de Campinas, Brasil.

3.3 PREPARO DE AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM MATRIZES AQUOSAS

A concentração de contaminantes emergentes, tanto em águas superficiais como na água tratada, é normalmente da ordem de ng L⁻¹ a µg L⁻¹. Por isso, além de técnicas capazes de detectar concentrações tão baixas são necessárias também etapas de preparo de amostra que envolva, dentre outros, a extração e concentração de tais contaminantes nesse tipo de matriz (U.S.EPA, 2014).

Há uma variedade de métodos de extração que podem ser utilizados no preparo de amostras para determinação de contaminantes emergentes em matrizes aquosas (TAN *et al.*, 2008; FONTANA *et al.*, 2009; CHEN; ZHANG; JONES, 2012; LIMA GOMES *et al.*, 2013). Contudo, a extração em fase sólida (SPE, do inglês,

Solid Phase Extraction), ainda é uma das mais utilizadas (DA SILVA; COLLINS, 2011).

Para SPE podem ser utilizadas diversos tipos de fases sorventes cuja escolha vai depender da característica dos compostos a serem extraídos. Cartuchos contendo fases poliméricas mistas, por exemplo, tem se destacado por apresentar ótimos percentuais de recuperação para extração de analitos de polaridade média a intermediária. Uma vez que esse tipo de fase sorvente apresenta características de interação mista (hidrofílico-lipofílica), elas são capazes de adsorver simultaneamente uma ampla gama de compostos orgânicos (DA SILVA; COLLINS, 2011; HENNION, 1999).

A utilização da SPE para determinação de contaminantes emergentes possibilita além da extração dos analitos, a eliminação ou minimização de interferentes da matriz muitas vezes sem a necessidade de uma etapa adicional de *clean-up*. É possível também obter elevados fatores de concentração dos analitos, devido à possibilidade de empregar grandes volumes de amostra, dependendo da quantidade de fase sorvente utilizada. Isso é importante para atingir um fator de enriquecimento que possibilite determinar esses contaminantes, que normalmente estão presentes em concentrações muito baixas, principalmente em águas superficiais e na água tratada (DA SILVA; COLLINS, 2011).

Ribeiro e colaboradores (2009), por exemplo, utilizaram SPE com fase sorvente polimérica (divinilbenzeno e N-vinilpirroliona) para extração de contaminantes emergentes em águas superficiais na região do Douro, Portugal. Amostras de 2,0 L foram submetidas à extração SPE, sob vácuo, numa vazão de 5 a 7 mL min⁻¹. Os analitos foram eluídos do cartucho com um mistura de CH₃OH:CH₃CN (50:50 v/v) e posteriormente determinados por HPLC-DAD e GC/MS. O fator de concentração alcançado foi cerca de 10.000 vezes, com percentuais de recuperação que variaram de 53 % a 116 %. Os limites de detecção e quantificação do método variaram de 3,2 a 18 ng L⁻¹ e de 9,8 a 54,5 ng L⁻¹.

A SPE foi usada por Rodil *et al.* (2012) para extração de contaminantes emergentes de amostras de água superficiais e água tratada. Cartuchos Oasis® HLB contendo 200 mg de fase sorvente polimérica foram utilizados nesse estudo. Foi investigada a presença de 55 substâncias tais como fármacos, retardantes de chama, plastificantes, herbicidas e outros. O volume de amostra extraída foi de 500 mL e o volume do extrato final analisado foi de 1,0 mL, obtendo-se um fator de

concentração de 500 vezes. O extrato foi analisado por LC-MS/MS e várias substâncias foram detectadas, dentre elas triclosan (10 ng L^{-1}), atenolol (25 ng L^{-1}) e carbamazepina ($6,0 \text{ ng L}^{-1}$).

Thomas *et al.* (2014), Caldas *et al.* (2013) e Sodré *et al.* (2010) também empregaram cartuchos de extração em fase sólida com fase polimérica mista (Oasis  HLB) na etapa de preparo de amostra para determinação de contaminantes emergentes em águas superficiais e de abastecimento público em diferentes regiões do Brasil. Com fatores de concentração que variaram de 500 a 5000 vezes foi possível determinar vários poluentes em concentrações da ordem de ng L^{-1} , dentre eles alguns hormônios (estr o, estradiol, estriol e etinilestradiol), fármacos e produtos industriais (diclofenaco, carbamazepina, nonilfenol, octilfenol e bisfenol A), agrotóxicos (atrazina, carbofurano e diuron) e até mesmo droga ilícita como a cocaína. Nos três trabalhos as amostras foram analisadas por LC-MS/MS.

3.3.1 Derivatização

Após a extração, os analitos podem ser eluídos e determinados diretamente por meio da técnica instrumental escolhida, ou ainda ter a necessidade de passar por etapas adicionais de preparo.

Muitos contaminantes emergentes, principalmente aqueles presentes em matrizes aquosas, são compostos hidrofílicos e pouco voláteis, possuindo normalmente grupos com caráter polar e sendo assim é comum que eles sejam submetidos a reações de derivatização antes de serem determinados via cromatografia gasosa (BOWDEN *et al.*, 2009).

A cromatografia gasosa é uma técnica com excelente capacidade de resolução e identificação para muitos compostos. Porém, seu uso requer que as substâncias submetidas à análise sejam voláteis e termicamente estáveis. No entanto, quando as substâncias de interesse não apresentam essas características, a utilização dessa técnica s    possível se tais substâncias forem submetidas a transformações químicas no sentido de aumentar a volatilidade e melhorar a estabilidade térmica delas, melhorando com isso a detectabilidade.

Essas transformações químicas normalmente são feitas por meio de uma reação de derivatização, onde as substâncias são submetidas a uma reação química

com reagentes capazes de realizar modificações específicas em um ou mais grupos funcionais da molécula. Dentre os grupos funcionais que podem ser modificados estão, o grupo carboxila ($-\text{CO}_2\text{H}$), o grupo hidroxila ($-\text{OH}$), grupo amino ($-\text{NH}$), grupo tiol ($-\text{SH}$), entre outros (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

Alguns tipos de reação de derivatização que podem ser utilizadas na transformação de compostos para serem submetidos à cromatografia em fase gasosa são: as reações de alquilação, acetilação e sililação.

No caso da alquilação, um átomo de hidrogênio é substituído por um grupo alquila ou arila durante a reação, sendo que há vários métodos e reagentes que podem ser empregados. Ácidos carboxílicos, por exemplo, podem ser transformados em alquilésteres a partir da reação com haletos de alquila na presença de hidreto de sódio. Fenóis, álcoois e aminas primárias e secundárias, podem ser derivatizadas por reação de acetilação na presença de anidridos ácidos, como o anidrido acético (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

As reações de sililação são mais comumente empregadas, pois normalmente envolvem protocolos de reação relativamente simples, podem ser rápidas e é possível encontrar comercialmente disponíveis alguns reagentes derivatizantes que são eficazes, de fácil utilização e que não geram subprodutos durante a reação.

A reação de sililação ocorre em uma única etapa, via mecanismo SN_2 , ou seja, via reação de substituição nucleofílica de segunda ordem, conforme demonstrado na Figura 13. A substituição ocorre em hidrogênios ativos de compostos como os dos álcoois, ácidos carboxílicos e fenóis reduzindo assim interações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo e consequentemente elevando a volatilidade dos compostos que sofrem essas modificações.

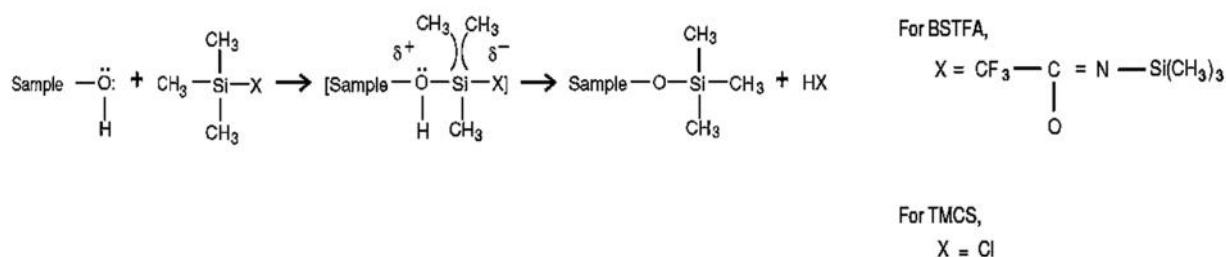


Figura 13 – Mecanismo da reação de sililação via SN_2 . Adaptado de: (Knapp, 1979).

Os hidrogênios ativos são substituídos por grupos trimetilsilílico ($-\text{RSi}(\text{CH}_3)_3$) durante a reação de derivatização (Figura 13), sendo que a facilidade de substituição dos diferentes grupos funcionais pelo reagente silanizante obedece a seguinte ordem: álcoois > fenóis > ácidos carboxílicos > aminas > amidas. As reações de sililação devem ser realizadas na ausência de água e podem ser aceleradas pelo aquecimento do meio reacional (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; SOLOMONS; FRYHLE, 2006).

Quando se tem uma diversidade de compostos, com diferentes grupos funcionais e com um ou mais grupos substituintes por moléculas, é interessante utilizar um reagente derivatizante que seja capaz de reagir, ou seja, derivatizar todas as substâncias em uma única etapa. Nesse caso, os reagentes silanizantes também apresentam vantagens, pois são capazes de derivatizar um número razoável de grupos funcionais distintos, como álcoois, fenóis e ácidos carboxílicos (MOL; SUNARTO; STEIJGER, 2000).

É importante que a reação de derivatização leve a formação de apenas o produto de interesse, não sendo desejável, principalmente para determinações quantitativas, a formação de subprodutos, pois isso pode afetar sensibilidade, precisão e exatidão das medidas (ZUO; ZHANG; LIN, 2007).

Muitos derivados silílicos podem sofrer hidrólise, por isso é requerido que o derivado formado durante a reação de derivatização seja estável nesse sentido. Alguns reagentes derivatizantes tendem a formar derivados mais estáveis. O derivatizante (N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida) + (trimetilclorosilano), mais conhecido como BSTFA (TMCS), leva a formação de produtos bem menos sensíveis a sofrer hidrólise. Outro derivatizante, o N-metil-N(terc-butildimetiltrifluoroacetamida), conhecido como MTBSTFA, forma derivados terc-butil-dimetilsilil, que também são mais estáveis e bem menos sensíveis a sofrer hidrólise (MOL; SUNARTO; STEIJGER, 2000).

Baixos limites de detecção também podem ser alcançados na determinação de contaminantes emergentes via GC-MS após submeter esses compostos a derivatização. Além de que é possível contemplar em um mesmo método a determinação de vários compostos, tanto aqueles que requerem derivatização prévia, como também outros que não necessitam ser derivatizados, mas que também podem ser encontrados em águas (MOL; SUNARTO; STEIJGER, 2000).

Muitos contaminantes emergentes que tem caráter mais polar poderiam até ser determinados por GC-MS sem derivatização, mas isso só é possível quando essas substâncias estão em concentrações mais elevadas, da ordem de mg L^{-1} , por exemplo. Entretanto, em matrizes aquáticas, principalmente em água tratada, a ocorrência desses compostos é da ordem de ng L^{-1} ou menor.

Em concentrações baixas, a detectabilidade dos compostos de menor volatilidade via GC-MS é significativamente reduzida. Pode ser observado, por exemplo, a diminuição na relação sinal ruído decorrente do aumento do sinal de substâncias interferentes que se desprendem da fase das colunas empregadas em GC (problema inerente à cromatografia gasosa). Sendo assim, uma etapa prévia de derivatização para aqueles compostos menos sensíveis na determinação por GC é necessária, pois pode melhorar muito a detecção e minimizar alguns desses problemas (MOL; SUNARTO; STEIJGER, 2000).

Alguns parâmetros podem afetar a eficiência da derivatização, dentre eles, o tipo de reagente derivatizante e a quantidade utilizada, a temperatura e o tempo de reação, entre outros. Sendo assim, a inclusão de uma etapa de derivatização num protocolo analítico também requer a otimização de alguns parâmetros.

Embora a etapa de derivatização leve a um aumento do número de etapas no preparo de amostra podendo ocasionar perdas em função de etapas adicionais de manipulação da mostra, o aumento da detectabilidade acaba por compensar esses problemas (GÓMEZ *et al.*, 2006).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Na primeira parte da seção 4 MATERIAIS E MÉTODOS serão descritos os protocolos empregados no estudo de avaliação da presença dos contaminantes emergentes em amostras de água tratada e manancial, coletadas nas capitais da região Sul do Brasil e na capital Campo Grande na região centro-oeste. Já na segunda parte, será apresentada a descrição da sequência de etapas seguidas para otimização do protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS e sua aplicação na avaliação da presença desses contaminantes em águas de abastecimento público em Curitiba.

4.1 PARTE 1

4.1.1 Critérios de amostragem para avaliação da presença de CE em águas de abastecimento público nas capitais, Curitiba, Florianópolis, Porto Alegre e Campo Grande.

Pesquisadores de sete instituições de ensino e pesquisa do país, todos eles, participantes do Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA), em um trabalho conjunto, coletaram amostras de água tratada e mananciais utilizados para o abastecimento da população em 21 capitais brasileiras e no Distrito Federal com o intuito de realizar um estudo pioneiro no Brasil quanto à presença de contaminantes emergentes em águas destinadas ao abastecimento público.

As amostras analisadas nesse estudo foram coletadas em duas campanhas amostrais, a primeira em 2011 e a segunda em 2012, entre os meses de junho e setembro. Na primeira campanha amostral, o grupo de Química Ambiental (GQA) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) foi responsável pela coleta das amostras nas capitais da região sul, Curitiba, Florianópolis e Porto Alegre. Já na segunda

campanha amostral, além das capitais da região sul, o GQA realizou também a coleta na cidade de Campo Grande, capital do estado do Mato Grosso do Sul.

O número de amostras coletadas por capital foi definido de acordo com a população local, ou seja, uma amostra para cada 500 mil habitantes atendidos por sistemas de abastecimento de água tratada.

Da mesma forma, o ponto de amostragem foi escolhido procurando abranger o sistema (ou sistemas) de abastecimento que atendem o maior número de habitantes em cada uma das capitais.

Amostras de água de manancial foram coletadas somente na segunda campanha e naquelas capitais onde foram determinados níveis mais elevados de contaminantes emergentes na água tratada na primeira campanha, como é o caso da cidade de Porto Alegre.

Na Tabela 1 são apresentados os dados de população e número de amostras coletadas nas duas campanhas amostrais.

Tabela 1 – Dados demográficos e de coleta de água tratada e manancial em quatro capitais Brasileiras.

Cidade (UF)	População* (milhões hab.)	Número de Amostras Coletadas			
		1ª Campanha (2011)		2ª Campanha (2012)	
		Tratada	Manancial	Tratada	Manancial
Porto Alegre (RS)	1,4	3	0	3	2
Curitiba (PR)	1,8	3	0	3	0
Florianópolis (SC)	0,4	1	0	1	0
Campo Grande (MS)	0,8	0	0	2	0

* (IBGE, 2010)

4.1.2 Dados dos sistemas de abastecimento de águas das capitais, Curitiba, Florianópolis, Porto Alegre e Campo Grande.

Curitiba, capital do Paraná, localizada na porção leste do estado é o município mais populoso do sul do país com aproximadamente 1,8 milhão de

habitantes. O município é a cidade pólo de um conjunto de 26 municípios que compõem a Região Metropolitana de Curitiba (RMC), que juntos totalizam cerca de 3,2 milhões de habitantes (IBGE, 2012).

O município de Curitiba situa-se próximo a Serra do Mar, uma das principais reservas florestais do Paraná, onde nascem afluentes da bacia hidrográfica do rio Iguaçu. O rio Iguaçu, juntamente com suas sub-bacias e afluentes, como o rio Iraí e o rio Passaúna, formam um complexo hídrico que é responsável pelo abastecimento de água para a população de Curitiba e parte da RMC (ANDREOLI *et al.*, 1999; IBGE, 2012; IPPUC, 2012).

Os serviços de saneamento básico em Curitiba e RMC são realizados pela Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR). Praticamente 100% dos domicílios de Curitiba são atendidos com água potável, mas apenas 51% da população da capital paranaense têm seus domicílios ligados à rede coletora de esgoto (ANA, 2010; MENDES, 2011; SNIS, 2012).

O abastecimento de água de Curitiba e RMC é composto de um Sistema de Abastecimento de Água Integrado^{*} com quatro locais de captação (canal Água Limpa, represa do Iraí, Rio Miringuava e represa do Passaúna) além de Sistemas de Abastecimento Isolados[†] (mananciais superficiais e poços artesianos). O Sistema Integrado opera com quatro Estações de Tratamento de Água, as ETA Iguaçu, Iraí, Passaúna e Miringuava. Os dados do sistema de abastecimento de Curitiba e RMC são mostrados na Tabela 2 (ANA, 2010).

Em Curitiba as amostras de água tratada foram coletadas em pontos abastecidos pelos sistemas Iguaçu/Iraí e Passaúna, os quais juntos respondem pelo abastecimento de mais de 90 % da população da capital além de cinco municípios da RMC.

*

Sistema de Abastecimento de Água Integrado: abastece a mais de um município a partir do mesmo manancial.

† Sistemas de Abastecimento Isolados: abastece apenas um município a partir de um mesmo manancial.

Tabela 2 – Sistemas de abastecimento de água de Curitiba e RMC.

Sistemas*	Mananciais*	ETA*	Municípios Atendidos*	População Atendida* (%)
Iguaçu	Canal Água Limpa (rios Iraí, Itaqui e Pequeno)	Iguaçu	Curitiba, Almirante Tamandaré, São José dos Pinhais	38
Iraí	Represa do Iraí	Iraí	Curitiba, Campina Grande do Sul, Colombo, Pinhais, Piraquara, Quatro Barras	35
Passaúna	Represa do Passaúna	Passaúna	Curitiba, Araucária, Campo Largo, Campo Magro	24
Miringuava	Rio Miringuava	Miringuava	Curitiba, Araucária, Fazenda Rio Grande, São José dos Pinhais	2
Sistemas Isolados	Rio Capitanduva, Rio Despique, Poços, Aquífero Karst	---	Quatro Barras, Fazenda Rio Grande, Almirante Tamandaré, Campina Grande do Sul, Campo Magro, Araucária, Colombo	5

*(ANA, 2010 ;CANELA *et al.*, 2014)

Florianópolis, a capital do estado de Santa Catarina está localizada no centro-leste do estado. Seu território é constituído por uma parte continental e por outra parte insular, sendo banhado pelo oceano Atlântico. Com uma população que já ultrapassa 400 mil habitantes é o polo comercial e de prestação de serviços no estado Catarinense, além de se destacar como importante pólo turístico do Brasil e Mercosul (IBGE, 2012; SMHSA, 2011).

Os serviços de abastecimento de água, coleta e tratamento de esgoto em Florianópolis e Região Metropolitana (RMF) são realizados pela Companhia Catarinense de Água e Saneamento (CASAN).

O abastecimento de água conta com três grandes sistemas. O maior deles, denominado Sistema Integrado de Abastecimento de Água da Grande Florianópolis (SIF) é responsável por atender 63 % da população da capital além de mais quatro municípios da RMF. A captação de água para o SIF é realizada nos rios Vargem do Braço e Cubatão do Sul localizada nos Municípios de Santo Amaro da Imperatriz e Águas Mornas, respectivamente, que estão distantes da capital cerca de 30 km. Esse sistema está interligado à ETA José Pedro Hostmann, localizada no município de Palhoça, na RMF.

O outro sistema que abastece Florianópolis, denominado Sistema Costa Norte (SCN) é responsável por fornecer água tratada para 24 % da população da capital. A captação de água para o SCN é realizada no aquífero Ingleses/Rio Vermelho por meio de 19 poços artesianos, todos localizados na parte norte da ilha e a água é tratada na ETA Costa Norte.

O terceiro e menor sistema de abastecimento da capital catarinense é o Sistema Costa Leste-Sul (SCLS) que atende 12 % da população. O principal manancial de captação desse sistema é a Lagoa do Peri, mas também há captação de água do Aquífero Campeche. O SCLS está interligado a ETA Lagoa do Peri (CASAN, 2012; SMHSA, 2011).

A coleta de amostra de água tratada em Florianópolis foi realizada em um ponto abastecido pelo SIF por ser o sistema de abastecimento que atende a maior parte da população. Um resumo das informações sobre o sistema de abastecimento de água de Florianópolis e RMF é mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 – Sistemas de abastecimento de água de Florianópolis e RMF.

Sistemas*	Mananciais*	ETA*	Municípios Atendidos*	População Atendida* (%)
SIF	Rio Cubatão do Sul e rio Vargem do Braço	José Pedro Horstmann	Florianópolis, Biguaçu, Palhoça, Santo Amaro da Imperatriz, São José	63
SCLS	Lagoa do Peri e aquífero Campeche	Lagoa do Peri	Florianópolis	12
SCN	Aquífero Ingleses/rio Vermelho	Costa Norte	Florianópolis	24
Sistemas Isolados	Aquíferos e mananciais de pequeno porte (rio Córrego Grande, rio Pau do Barro e córrego Ana D'Ávila)	..	Florianópolis	1

*(ANA, 2010 ;CANELA *et al.*, 2014 ;SMHSA, 2011)

Porto Alegre, capital do Rio Grande do Sul, tem uma população de aproximadamente 1,4 milhão de habitantes. O centro urbano do município situa-se a aproximadamente 10 m acima do nível do mar, sendo contornado ao longo de 70 km

pelo lago Guaíba, principal manancial de abastecimento de água para a capital gaúcha (IBGE, 2012; PENTER *et al.*, 2008).

O abastecimento de água, coleta e tratamento de esgoto em Porto Alegre é de responsabilidade do Departamento Municipal de Água e Esgoto (DMAE). Os demais municípios da Região Metropolitana de Porto Alegre (RMPOA) contam com sistemas de abastecimento isolados e com mananciais próprios que são gerenciados por outras companhias de saneamento municipais ou estaduais.

De acordo com o DMAE, 100 % da população de Porto Alegre é atendida com água tratada e 90 % dos domicílios estão ligados a rede coletora de esgoto. Contudo, de todo esgoto coletado cerca de 30 % recebe tratamento (DMAE, 2012).

A água tratada fornecida a população de Porto Alegre é proveniente de seis sistemas de abastecimento e 111 subsistemas. Os sistemas são Moinhos de Vento, São João, Menino Deus, Belém Novo, Tristeza e ilha da Pintada, cada um deles divididos então nos diversos subsistemas.

A captação de água é realizada no lago Guaíba, com exceção apenas do Sistema Ilha da Pintada que capta água no Rio Jacuí. Cada um dos seis sistemas de abastecimento de Porto Alegre está interligado a uma ETA, são elas: Moinhos de Vento, São João, José Loureiro da Silva, Belém Novo, Francisco Lemos Pinto e Tristeza. As três primeiras fornecem água tratada para 84 % da população de Porto Alegre (DMAE, 2012).

As coletas de água tratada em Porto Alegre foram realizadas em pontos abastecidos pelos três maiores sistemas de abastecimento do município, Moinhos de Vento, São João e Menino Deus, que juntos respondem pelo abastecimento de aproximadamente 1,2 milhão de habitantes.

Na primeira campanha amostral foram coletadas somente amostras de água de abastecimento. Enquanto que na segunda campanha amostral foram coletadas também duas amostras do lago Guaíba. A coleta foi realizada próxima aos pontos de captação que abastecem os dois maiores sistemas, São João e Menino Deus.

Os dados sobre o sistema de abastecimento de água de Porto Alegre são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Sistemas de abastecimento de água de Porto Alegre.

Sistemas*	Mananciais*	ETA*	Municípios Atendidos*	População Atendida* (%)
Moinhos de Vento	Lago Guaíba	Moinhos de Vento	Porto Alegre	12
São João	Lago Guaíba	São João	Porto Alegre	32
Menino Deus	Lago Guaíba	José Loureiro da Silva	Porto Alegre	40
Belém Novo	Lago Guaíba	Belém Novo	Porto Alegre	12
Tristeza	Lago Guaíba	Tristeza	Porto Alegre	3
Ilha da Pintada	Lago Guaíba/Jacuí	Francisco Lemos Pinto	Porto Alegre	1

*(ANA, 2010 ;CANELA *et al.*, 2014 ;DMAE, 2012)

Campo Grande, a capital sul mato-grossense, tem uma população de cerca de 800 mil habitantes. O município está situado sobre a maior reserva subterrânea de água doce do mundo, o aquífero Guarani e por isso tem uma situação privilegiada no que diz respeito ao acesso a águas subterrâneas, mas, por outro lado, não há nenhum grande manancial superficial nas proximidades do município, o que faz com que o abastecimento de água nessa capital seja proveniente em parte das águas subterrâneas e em parte de águas superficiais captadas de rios de pequeno porte (ÁGUAS GUARIROBA, 2013; IBGE, 2012).

A coleta, tratamento de esgoto e abastecimento de água em Campo Grande é de responsabilidade da concessionária Águas Guariroba. A água tratada fornecida a 67 % da população de Campo Grande é captada nos córregos Guariroba e Lajeado, sendo o Guariroba o principal deles, respondendo por 50 % do total. Os outros 33 % da população são abastecidas com água subterrânea captada por meio de 105 poços. O sistema de abastecimento de água de Campo Grande conta com duas estações de tratamento de água, a ETA Guariroba e ETA Lajeado, que realizam tanto o tratamento das águas superficiais quanto da água de captação subterrânea (ÁGUAS GUARIROBA, 2013). Os dados sobre o sistema de abastecimento de água de Campo Grande são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Sistemas de abastecimento de água de Campo Grande.

Sistemas*	Mananciais*	ETA*	Municípios Atendidos*	População Atendida* (%)
Lajeado	Córrego Lajeado	Lajeado	Campo Grande	17
Guariroba	Córrego Guariroba	Guariroba	Campo Grande	50
Poços	Aquíferos Serra Geral, Caiuá e Guarani	Guariroba	Campo Grande	33

*(ÁGUAS GUARIROBA, 2013 ;ANA, 2010 ;CANELA *et al.*, 2014)

Em Campo Grande foram coletadas duas amostras de água tratada apenas na segunda campanha. As amostras foram coletadas em pontos abastecidos pelo sistema Guariroba.

4.1.3 Reagentes e Soluções

No estudo de avaliação da presença dos contaminantes emergentes em água tratada e manancial nas capitais Brasileiras investigou-se a presença de 16 substâncias classificadas como contaminantes emergentes. A Tabela 6 lista as substâncias escolhidas e algumas informações sobre os padrões utilizados. A cafeína- d_9 foi utilizada como padrão interno. Os solventes foram de grau HPLC ou pesticida. Foi utilizada sempre água ultra-pura (resistividade de 18,2 M Ω .cm) obtida por meio de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore).

Soluções estoque na concentração de 400 mg L⁻¹ foram preparadas solubilizando cada substância individualmente em metanol. Soluções diluídas contendo uma mistura de todas as substâncias foram obtidas tomando-se alíquotas das soluções estoque individuais e solubilizando-as em MeOH:H₂O a 30:70 v/v, que é a composição inicial da fase móvel. As concentrações das soluções diluídas variaram de 1 a 1000 µg L⁻¹ e estas soluções foram utilizadas na obtenção da curva

analítica e também nas fortificações das amostras para os ensaios de recuperação. A cafeína-d9 (padrão interno) foi utilizada na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 6 – Lista dos padrões utilizados no estudo do INCTAA de avaliação da presença de contaminantes emergentes em águas de abastecimento público nas capitais do Brasil.

Nº	Substâncias	Siglas	Fórmula	Massa Molar (g mol^{-1})	Número CAS*	Fornecedor	Pureza (%)
1	Atrazina	ATZ	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{ClN}_5$	215,68	1912-24-9	Sigma Aldrich®	>99
2	4-n-octilfenol	OPN	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$	206,17	1806-26-4	Supelco	>99
3	Cafeína	CAF	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$	194,19	58-08-2	Sigma Aldrich®	99
4	Cafeína-D ₉	CAF-d9	$\text{C}_8\text{D}_9\text{HN}_4\text{O}_2$	203,25	72238-85-8	Sigma Aldrich®	98
5	4-n-nonilfenol	NPN	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	220,18	104-40-5	Supelco	>99
6	Triclosan	TCS	$\text{C}_{12}\text{H}_7\text{Cl}_3\text{O}_2$	289,54	3380-34-5	Sigma Aldrich®	>99
7	Bisfenol A	BISA	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$	228,12	80-05-7	Sigma Aldrich®	97
8	Estrona	E1	$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_2$	270,16	53-16-7	Sigma Aldrich®	>99
9	17 -estradiol	E2	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$	272,18	50-28-2	Sigma Aldrich®	97
10	Testosterona	TTN	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_2$	288,42	58-22-0	Sigma Aldrich®	99,5
11	17 -etinilestradiol	EE2	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_2$	296,18	57-63-6	Sigma Aldrich®	98
12	Progesterona	PGN	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	314,47	57-83-0	Sigma Aldrich®	98
13	Estriol	E3	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$	288,17	50-27-1	Fluka®	>97
14	Dietilestilbestrol	DES	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$	268,36	56-53-1	Sigma Aldrich®	99
15	Levonorgestrel	NGT	$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_2$	312,5	797-63-7	Sigma Aldrich®	>99
16	Mestranol	MEE	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_2$	310,44	72-33-3	Sigma Aldrich®	-
17	Fenolftaleína	PhPh	$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$	318,32	77-09-8	Riedel-deHaen	>98

*CAS: Chemical Abstracts Service

4.1.4 Procedimento de limpeza e descontaminação dos materiais e vidrarias

Todas as vidrarias utilizadas passaram por um processo rigoroso de limpeza para evitar possíveis contaminações, uma vez que, os compostos investigados normalmente são encontrados em concentrações muito baixas (nível traço) em matrizes ambientais.

As vidrarias não volumétricas foram lavadas primeiramente com detergente Extran® neutro e água corrente. Em seguida foram enxaguadas com água corrente, seguido de enxágüe com cinco alíquotas de água destilada e depois com cinco alíquotas de água ultrapura proveniente de um sistema de purificação Milli-Q da Millipore Inc. Finalmente, as paredes dos frascos foram lavadas com duas alíquotas de acetona P.A. Após secarem a temperatura ambiente, as vidrarias foram colocadas em forno mufla e submetidas a uma temperatura de 400 °C por quatro horas a fim de eliminar possíveis resíduos orgânicos. Após resfriamento todas as vidrarias foram cobertas com papel alumínio e guardadas até utilização.

Para as vidrarias volumétricas, após a lavagem com detergente e enxágüe com água corrente, as mesmas foram mantidas submersas em solução de Extran® 10 % (v/v) por 24 horas. Após esse período elas foram enxaguadas exaustivamente com água corrente, seguida de água destilada e por último com água ultrapura conforme descrito no parágrafo anterior. Em seguida, essas vidrarias foram enxaguadas com alíquotas de acetona e após a evaporação do solvente foram protegidas com papel alumínio e devidamente guardadas.

4.1.5 Coleta, armazenamento e preparo das amostras

As amostras de água tratada foram coletadas em residências atendidas por redes de abastecimento local. As coletas foram realizadas diretamente no hidrômetro do imóvel, ou em alguns casos, em torneiras que recebem a água que chega diretamente da rede de abastecimento, evitando assim qualquer interferência proveniente, por exemplo, do contato dessa água com a caixa d'água da residência.

Em cada ponto de amostragem, foi coletado 200 mL de água tratada a cada duas horas, durante um período de 8 horas, obtendo no final uma amostra composta com volume total de 1000 mL. Para obter a amostra composta, a cada duas horas, a torneira foi aberta e a circulação de água permitida por um minuto antes de iniciar a coleta. Depois de transcorrido esse tempo, a água foi coletada em um balão volumétrico de 200 mL e em seguida esse volume foi transferido para frasco âmbar com capacidade para 1000 mL, devidamente limpo. Os frascos permaneceram em caixa térmica com gelo durante todo o período de coleta. Após o término, eles foram então selados com papel alumínio, tampados e mantidos sob refrigeração (4 °C) até a realização do procedimento de extração que ocorreu sempre dentro de 24 horas após cada coleta.

O procedimento de extração dos contaminantes emergentes das amostras de água tratada foi realizado em um sistema para extração em fase sólida (SPE) desenvolvido no Laboratório de Química Ambiental (LQA) do Instituto de Química da Unicamp por Sodré e colaboradores (2010c). Esse sistema consiste de um conjunto de peças e conexões confeccionadas em teflon®, latão e aço inox que são acopladas ao frasco contendo a amostra e ao cartucho de extração em fase sólida. O sistema é conectado a uma bomba peristáltica para permitir a passagem contínua da amostra pelo cartucho de extração.

Esse sistema permite trabalhar com maior controle de vazão e de maneira contínua e limpa, uma vez que todos os tubos e conexões utilizados são de materiais com baixa tendência a adsorção de compostos orgânicos minimizando assim problemas de contaminação.

Os analitos foram extraídos em cartuchos SPE Oasis HLB (Hydrophilic-Lipophilic-Balance) da Waters® contendo 500 mg de fase sólida (sorvente). Esse tipo de cartucho possui como fase sólida um sorvente misto, contendo um polímero lipofílico (divinilbenzeno) combinado com um polímero hidrofílico (n-vinilpirrolidina).

O procedimento de extração seguiu a seguinte ordem: primeiramente, a fase estacionária dos cartuchos foi condicionada com duas alíquotas de 3,0 mL de metanol, seguida por lavagem com duas alíquotas de 3,0 mL de água ultrapura (Milli-Q). Após essa etapa, todo volume de amostra (1000 mL) foi então passado através do cartucho numa vazão de 6 mL min⁻¹. Após condicionamento, a fase sorvente permaneceu úmida durante todo o procedimento de extração.

Após o término da extração, os cartuchos ainda úmidos, contendo o(s) analito(s), foram embalados com papel alumínio e conservados sob refrigeração (4 °C) por no máximo 5 dias até serem enviados para o LQA-UNICAMP (via SEDEX 10) devidamente acondicionados em caixas térmicas com gelo gel para posterior eluição e determinação das substâncias de interesse.

4.1.6 Análise cromatográfica por LC-MS/MS

A análise cromatográfica de todas as amostras de água coletadas nas capitais brasileiras foi realizada no Laboratório de Química Ambiental (LQA) da Unicamp. Por isso todo o procedimento de eluição e análise cromatográfica descritos nesse item são baseados em trabalhos desenvolvidos no LQA (SODRÉ *et al.*, 2010b; LOCATELLI; SODRÉ; JARDIM, 2011; MONTAGNER; JARDIM, 2011).

A detecção e quantificação dos analitos foram realizadas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas. Para isso foi utilizado um cromatógrafo a líquido da Agilent Technologies, modelo LC 1200, acoplado a um espectrômetro de massas composto de um analisador de massas sequencial do tipo triplo quadrupolo (QqQ) também da Agilent, modelo 6410B. Para a ionização, foi empregada uma fonte de ionização por eletronebulização (ESI, do inglês, *electrospray ionization*) (LC-ESI-MS/MS). A quantificação foi realizada no modo MRM (do inglês, *Multiple Reaction Monitoring*).

A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Zorbax SB-C18 (2,1 x 30 mm) preenchida com partículas de 3,5 µm, da *Agilent Technologies*. A fase móvel foi composta de água e metanol com 0,01 % (v/v) de hidróxido de amônio utilizado como aditivo para melhorar a ionização. A composição inicial da fase móvel foi de MeOH:H₂O a 30:70 v/v, chegando a 70 % de metanol em 3 minutos, e aumentando para 90 % em mais 2 minutos. Essa composição final foi mantida por 7 minutos, restabelecendo as condições iniciais do gradiente em 5 minutos, chegando a um tempo total de corrida cromatográfica de 17 minutos. A vazão da fase móvel foi de 0,3 mL min⁻¹, a coluna foi mantida na temperatura de 30 °C e o volume de amostra injetado foi de 10 µL.

Para serem submetidos a análise cromatográfica, os analitos foram eluídos do cartucho por meio da passagem de 2 alíquotas de 2,5 mL de metanol, seguido de 1 alíquota de 2,0 mL de acetonitrila. Esse procedimento foi realizado empregado um sistema a vácuo para SPE denominado “*Manifold*”, da *Agilent Technologies* (modelo: *VacElut20*). Os eluatos foram recolhidos em tubos de ensaio com capacidade para 10,0 mL e tiveram seu volume reduzido para aproximadamente 1,0 mL sob fluxo de nitrogênio (N₂). Esse volume foi então transferido quantitativamente para frascos (*vials*) de 2,0 mL de capacidade providos de tampa com septo. O eluato foi levado à secura sob fluxo de N₂ e o extrato final foi solubilizado em uma solução MeOH:H₂O 30:70 (v/v).

4.2 PARTE 2

4.2.1 Reagentes, soluções, limpeza e descontaminação de vidrarias.

Quinze substâncias foram escolhidas para otimização do protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS. A atrazina-D5 foi utilizada como padrão interno e outras três substâncias deuteradas, ibuprofeno-d3, bisfenol A-d16 e estradiol-d3 foram usados como surrogate para avaliar a recuperação.

Para as reações de derivatização foi utilizado o reagente derivatizante N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) com 1% de trimetilclorosilano (TMCS) (marca: Sigma, *CAS number*: 25561-30-2), comumente denominado apenas como BSTFA.

Todos os solventes utilizados tanto no preparo de soluções, nas injeções cromatográficas quanto na limpeza e descontaminação das vidrarias foram de grau HPLC. Na Tabela 7 são apresentadas algumas informações referentes aos padrões utilizados.

Tabela 7 – Lista dos padrões de contaminantes emergentes utilizados na otimização do protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS.

Nº	Substâncias	Fórmula	Massa Molar (g mol ⁻¹)	Número CAS	Fornecedor	Pureza (%)
1	Ibuprofeno-D ₃	C ₁₃ D ₃ H ₁₅ O ₂	209,3	121662-14-4	Fluka	99,8
2	Ibuprofeno	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206,28	15687-27-1	Fluka	99,9
3	Paracetamol	C ₈ H ₉ NO ₂	151,16	103-90-2	Sigma Aldrich®	98,5
4	Atrazina-D ₅	C ₈ H ₉ ClD ₅ N ₅	220,71	163165-75-1	Fluka	99,6
5	Atrazina	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215,68	1912-24-9	Fluka	99,9
6	Octilfenol	C ₁₄ H ₂₂ O	206,00	1806-26-4	Supelco	99,9
7	Cafeína	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,19	58-08-2	Sigma Aldrich®	100,2
8	Nonilfenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220,35	104-40-5	Fluka	99,9
9	Metil-triclosan	C ₁₃ H ₉ Cl ₃ O ₂	303,57	464001-1	Fluka	99,1
10	Triclosan	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂	289,54	3380-34-5	Sigma Aldrich®	99,8
11	Bisfenol A-D ₁₆	C ₁₅ D ₁₆ O ₂	244,00	96210-87-6	Supelco	99,9
12	Bisfenol A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228,00	80-05-7	Supelco	99,9
13	Estrona	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270,37	53-16-7	Fluka	99,3
14	17 -Estradiol-D ₃	C ₁₈ H ₂₁ D ₃ O ₂	275,4	79037-37-9	Supelco	99,8
15	17 -estradiol	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272,38	50-28-2	Sigma Aldrich®	99,3
16	Testosterona	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288,42	58-22-0	Fluka	99,7
17	17 -etinilestradiol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,40	57-63-6	Fluka	99,3
18	Progesterona	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314,46	57-83-0	Fluka	99,8
19	Estriol	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	288,38	50-27-1	Fluka	99,3

CAS: Chemical Abstracts Service

Para o preparo das soluções padrão, cerca de 5,0 mg das substâncias listadas na Tabela 7 foram pesadas, individualmente, em balança analítica (Marca: Sartorius; Modelo: CP225; precisão: 0,01 mg). A única exceção foi o padrão do metil-triclosan, que devido ao fato de ter característica física mais viscosa, foi

necessário transferir a massa total do frasco do padrão (50 mg) no momento do preparo da solução.

Cada substância padrão foi solubilizada em 10,0 mL de metanol, proporcionando assim, soluções estoque de concentração igual a 500 mg L⁻¹. As soluções estoque foram acondicionadas em tubos de vidro providos com tampa (capacidade: 12 mL). Os tubos foram envolvidos em papel alumínio para evitar exposição à luz e em seguida foram devidamente etiquetados e acondicionados sob refrigeração (-20°C).

Soluções diluídas contendo uma mistura de todas as substâncias padrão foram obtidas tomando-se alíquotas das soluções estoque individuais e diluindo-as novamente em metanol. As soluções contendo essa mistura das substâncias padrão foram denominadas de “solução mix”.

A curva analítica foi contruída a partir das soluções mix diluídas contendo 15 substâncias padrão e 3 padrões surrogate (IBU-D3, E2-D3 e BISA-D3). As soluções mix foram utilizadas também nas fortificações das amostras para os ensaios de recuperação. A atrazina-d5 foi empregada como padrão interno em concentrações que variaram de 100 µg L⁻¹ na obtenção da curva analítica e ensaios de recuperação e 500 ou 1000 µg L⁻¹ para demais experimentos realizados, incluindo as otimizações do método cromatográfico e derivatização.

Todas as vidrarias utilizadas durante a otimização do protocolo analítico também passaram por um processo rigoroso de limpeza conforme descrito no item 4.1.4 (parte 1).

4.2.2 Parâmetros Instrumentais para determinação de CE por GC-MS

A otimização cromatográfica para determinação dos contaminantes emergentes foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas com analisador do tipo armadilha de íons, ambos da Thermo Scientific (modelo: FocusGC/PolarisQ). O modo de ionização empregado foi por Impacto de Elétrons (EI, do inglês *electron impact*). A injeção dos compostos foi realizada com amostrador automático, modelo A3000 também da Thermo Scientific.

Estudos preliminares foram conduzidos no sentido de promover uma separação cromatográfica adequada para os compostos de interesse e também identificar os respectivos valores de relação massa carga (m/z) para identificação e quantificação de cada analito.

Para estes estudos iniciais, o injetor foi operado a 280 °C no modo splitless e a linha de transferência foi mantida a 280 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 80 °C mantida por 1 minuto, seguido de elevação numa razão de 10 °C min⁻¹ até 300 °C, mantendo nesse patamar por 10 minutos, perfazendo um tempo total de corrida cromatográfica de 33 minutos. A energia aplicada para ionização das moléculas foi de 70 eV. A coluna utilizada foi uma DB-5MS (Agilent Technologies) com dimensões de 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm. O gás de arraste utilizado foi o He (g) numa vazão de 1,0 mL min⁻¹ com split flow de 50 mL min⁻¹ após injeção. Essas condições foram escolhidas com base em trabalhos da literatura (GUITART; READMAN, 2010; SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010a; ANDRÁSI *et al.*, 2011a).

A maioria dos analitos precisou ser derivatizada antes da injeção para possibilitar sua determinação por GC-MS. Nesses estudos iniciais as reações de derivatização foram realizadas em banho termostaticado a 75 °C por 90 minutos e o volume de reagente derivatizante (BSTFA) foi 100 µL (GOMES *et al.*, 2004; IKONOMOU *et al.*, 2008).

Depois de identificadas as razões massa-carga (m/z) de identificação e quantificação de cada analito foi realizada uma otimização de alguns parâmetros cromatográficos e posteriormente do método de derivatização, buscando encontrar as condições experimentais adequadas para a determinação simultânea dos 15 contaminantes emergentes e dos padrões deuterados empregados como surrogate, e com isso obter limites de detecção e quantificação compatíveis com as concentrações desses compostos em matrizes como água superficial e tratada.

O efeito das variáveis (ou fatores) relevantes para a otimização dos parâmetros cromatográficos, tais como temperatura do injetor e da linha de transferência, pulso de pressão e tempo de pulso, tempo de splitless, foi avaliado por planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹ em dois níveis, além da avaliação em triplicata do valor médio entre os níveis (ponto central). A Tabela 8 mostra os fatores e os níveis avaliados.

Tabela 8 - Condições avaliadas na otimização de alguns parâmetros cromatográficos utilizando um planejamento fatorial 2^{5-1} .

Fatores	Nível (-)	Ponto Central	Nível (+)
1 T injetor (°C)	250	275	300
2 T linha transferência (°C)	250	275	300
3 Pulso de Pressão (kPa)	50	100	150
4 t pulso de pressão (min)	0,20	0,60	1,00
5 t splitless (min)	1	2	3

4.2.3 Parâmetros para derivatização

Foram otimizados dois métodos de derivatização. No primeiro deles, nomeado como *derivatização1*, a reação de derivatização foi realizada em um banho termostaticado (marca Quimis, modelo Q214M2). No segundo método, nomeado *derivatização2*, a reação de derivatização foi realizada em um forno micro-ondas doméstico (marca Eletrolux, modelo ME850). O efeito dos fatores relevantes para a reação de derivatização, tais como volume de reagente derivatizante, temperatura e tempo de reação foram avaliados por planejamento fatorial, utilizando como resposta a área do pico cromatográfico de cada analito. O efeito dos fatores citados foi avaliado em dois níveis, o que configura um planejamento fatorial 2^3 acrescido de ponto central conforme mostrado nas Tabelas 9a e 9b.

Tabela 9a - Condições avaliadas na otimização do método *derivatização1*.

Fatores	Nível (-)	Ponto Central	Nível (+)
1 T banho (°C)	25	50	75
2 t derivatização (min)	30	60	90
3 V derivatizante (µL)	20	60	100

Tabela 9b - Condições avaliadas na otimização do método *derivatização2*.

Fatores	Nível (-)	Ponto Central	Nível (+)
1 Potência (W)	840	1120	1400
2 t derivatização (min)	1	3	5
3 V derivatizante (µL)	20	60	100

Para realização dos ensaios de derivatização, alíquotas de 50 μL de uma solução mix 20 mg L^{-1} foram adicionadas em *vials* com capacidade de 2,0 mL. O solvente (metanol) foi evaporado sob fluxo de $\text{N}_2(\text{g})$ até a secura. Em seguida foram adicionados aos *vials* diferentes volumes de reagente derivatizante BSTFA de acordo com os níveis indicados nas Tabelas 5a e 5b para os métodos *derivatização1* e *derivatização2*, respectivamente. As reações de derivatização foram conduzidas sob temperatura controlada, por tempo determinado e após transcorrido esse tempo os *vials* contendo o BSTFA foram mantidos sob fluxo de $\text{N}_2(\text{g})$ até evaporação completa do reagente derivatizante. A ressuspensão foi realizada em 1,0 mL de hexano contendo o padrão interno (ATZ-D5) na concentração de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Essa solução final contendo os analitos também na concentração de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi analisada por GC-MS.

4.2.4 Curva Analítica, Recuperação e Parâmetros de Mérito

As curvas analíticas foram preparadas periodicamente, sempre construídas a partir da injeção no GC-MS de soluções padrão mix contendo 18 substâncias, sendo 3 deuteradas (padrões *surrogate*) nas seguintes concentrações: 0, 1, 5, 10, 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. O padrão interno (ATZ-D5) foi injetado na concentração de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Todos os pontos da curva foram avaliados em triplicata. A partir da curva analítica foi possível estabelecer o coeficiente de correlação (R) entre o sinal analítico (área de pico do analito/área de pico do P.I) e a concentração de cada analito e obter os respectivos valores de limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

A recuperação dos analitos foi avaliada em água ultrapura e também na matriz (água tratada) nas concentrações de 0, 25, 50 e 100 ng L^{-1} . Para isso, 1,0 L de água ultrapura e também de água tratada foram fortificadas por meio da adição de alíquotas de uma solução mix na concentração de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ contendo os analitos e os padrões *surrogate*. Após fortificação, as amostras foram homogeneizadas e deixadas em repouso por meia hora antes de serem submetidas a extração em fase sólida (SPE).

Para extração em fase sólida, as amostras foram passadas em cartuchos SPE Oasis HLB (Hydrophilic-Lipophilic-Balance) da Waters®. O procedimento de extração foi realizado conforme descrito no item 4.1.5 (parte1). Depois de terminada a extração os cartuchos foram mantidos úmidos e armazenados sob refrigeração (4 °C) por no máximo 7 dias até ser realizado o procedimento de eluição.

Antes da eluição os cartuchos foram mantidos sob fluxo de N₂ (g) por 15 minutos para retirar o excesso de água que ficou retida na fase sorvente. Como o fluxo de N₂ (g) leva ao resfriamento dos cartuchos, após secagem, foi esperado alguns minutos até atingir novamente a temperatura ambiente antes de iniciar a eluição.

Os analitos foram eluídos, passando pela fase sorvente 2 alíquotas de 2,5 mL de metanol, seguido de 1 alíquota de 2,0 mL de acetonitrila. Esse procedimento foi realizado empregado um sistema a vácuo denominado “*Manifold*”. Os eluatos foram recolhidos em tubos de ensaio com capacidade para 12,0 mL e tiveram seu volume reduzido para aproximadamente 500 µL em concentrador a vácuo (marca: Christ) a 25 °C. Esse volume foi então transferido quantitativamente para frascos (*vials*) de 2,0 mL de capacidade providos de tampa com septo. O eluato foi então levado à secar sob fluxo de N₂, foi realizada a derivatização e por fim o extrato foi solubilizado em hexano com adição de padrão interno para injeção no GC-MS.

4.2.5 Avaliação da presença de contaminantes emergentes em águas de abastecimento público em Curitiba.

Foram coletadas amostras de água tratada em residências localizadas nos Bairros Jardim das Américas e Rebouças na cidade de Curitiba, que recebem água tratada do Sistema Iguaçu/Iraí. As coletas foram realizadas em torneira que recebe a água diretamente da rede de abastecimento, evitando assim qualquer interferência proveniente do contato dessa água com a caixa d'água da residência.

Para coleta, a torneira foi aberta e a circulação de água permitida por um minuto. Depois foram coletados 4 litros de amostra em frasco âmbar devidamente limpo. Esse volume foi dividido em 4 alíquotas de 1,0 L, sendo 3 delas fortificadas com

a solução mix padrão conforme descrito no item 4.2.4 (parte 2) e a quarta alíquota submetida ao procedimento de extração sem ser fortificada.

Após a coleta, a amostra foi levada ao laboratório onde foi submetida imediatamente a extração em fase sólida. Porém, se necessário a amostra pode ser mantida refrigerada a 4 °C por até 24h antes da extração.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Capítulo de RESULTADOS E DISCUSSÃO, assim como o de MATERIAIS E MÉTODOS, está dividido em duas partes. Na primeira parte deste capítulo são abordados os aspectos mais relevantes referentes ao estudo da presença dos contaminantes emergentes em amostras de água tratada e manancial coletadas nas capitais da região Sul e também em Campo Grande. Na segunda parte do capítulo 5 serão apresentados e discutidos os resultados referentes à otimização do protocolo analítico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS e sua aplicação na determinação da presença desses contaminantes em águas de abastecimento público em Curitiba.

5.1 PARTE 1

5.1.1 Presença de contaminantes emergentes em águas de abastecimento público nas capitais, Curitiba, Porto Alegre, Florianópolis e Campo Grande

No estudo apoiado pelo INCTAA foram realizadas coletas em duas campanhas amostrais (2011 e 2012). Foi coletado um total de 100 amostras de água tratada em 61 pontos amostrais distribuídos por 21 capitais brasileiras além do Distrito Federal.

Dessas 100 amostras, 14 foram coletadas nas capitais da região Sul e 2 amostras foram coletadas na cidade de Campo Grande. Em Porto Alegre, foram coletadas também amostras do manancial de abastecimento durante a segunda campanha.

As substâncias determinadas nas duas campanhas amostrais realizadas nas capitais da região Sul e Campo Grande estão listadas na Tabela 10.

Tabela 10 - Contaminantes Emergentes em amostras de água tratada e manancial coletadas nas capitais Porto Alegre, Curitiba, Florianópolis e Campo Grande

Cidade	Ponto Amostral	Descrição do Ponto Amostral	Tipo de Amostra	Concentração (ng L ⁻¹)				
				1ª Campanha			2ª Campanha	
				CAF	ATZ	TCS	CAF	ATZ
Porto Alegre	RS-1	Bairro Paternon	Água tratada	236	2,0	<9,0*	1342	3,0
	RS-2	Bairro Protázio Alves	Água tratada	139	2,0	n.d	2769	3,0
	RS-3	Bairro Bela Vista	Água tratada	122	2,0	n.d	2659	3,0
	RSM-1	Lago Guaíba	Manancial	n.c.	n.c.	n.c.	1733	3,0
	RSM-2	Lago Guaíba	Manancial	n.c.	n.c.	n.c.	2572	3,0
Curitiba	PR-1	Bairro Cajuru	Água tratada	8,0	2,0	n.d	167	10
	PR-2	Bairro Rebouças	Água tratada	6,1	2,0	n.d	157	<2,0*
	PR-3	Bairro Cidade Industrial	Água tratada	4,2	6,0	n.d	25	<2,0*
Campo Grande	MS-1	Pq. Res. Rita Vieira	Água tratada	n.c.	n.c.	n.c.	1793	15
	MS-2	Bairro Vilas Boas	Água tratada	n.c.	n.c.	n.c.	6,0	<2,0*
Florianópolis	SC-1	Bairro Pantanal	Água tratada	4,0	2,0	n.d	19	15

Legenda: n.c = não coletada; n.d: não detectado; *LQ_{CAF} = 4,0 ng L⁻¹; LQ_{ATZ} = 2,0 ng L⁻¹; LQ_{TCS} = 9,0 ng L⁻¹

A substância com maior frequência de detecção nas amostras coletadas nas capitais listadas na Tabela 10 foi a cafeína, sendo detectada em 100 % das amostras.

Porto Alegre foi a capital que apresentou as maiores concentrações de cafeína na água tratada, com valores acima de 100 ng L⁻¹ e 1000 ng L⁻¹ nas amostras coletadas em 2011 e 2012, respectivamente. Na segunda campanha amostral, além de amostras de água de abastecimento, foram coletadas duas amostras do lago Guaíba, o qual é utilizado como principal fonte de abastecimento de água tratada da capital gaúcha. A concentração de cafeína nas amostras de água superficial também foi superior a 1000 ng L⁻¹, ficando na mesma ordem de grandeza que as concentrações encontradas na água tratada na segunda campanha amostral.

Os resultados obtidos para Porto Alegre podem estar relacionados a dois fatores. O primeiro deles diz respeito ao hábito cultural dos gaúchos de consumir erva mate através do chimarrão, bebida típica e muito consumida não somente em Porto Alegre como em todo estado do Rio Grande do Sul. A cafeína é um dos principais componentes dessa bebida que é consumida diariamente e em quantidades significativas. Isso poderia acarretar no aumento da carga de cafeína no

esgoto doméstico e conseqüentemente na água tratada, o que poderia justificar as concentrações mais elevadas determinadas em Porto Alegre. O segundo fator que pode explicar as concentrações mais elevadas tanto no manancial quanto na água tratada em Porto Alegre está relacionado à fonte de captação de água. O lago Guaíba, que é utilizado para abastecer a população com água tratada está localizado em região muito urbanizada onde concentra cerca de 3,9 milhões de pessoas que corresponde a aproximadamente 70 % da população do estado do Rio Grande do Sul. Além disso, o lago Guaíba recebe também o esgoto gerado no município, que segundo dados do DMAE, até 2012 pouco mais de 30 % do esgoto gerado recebia tratamento (DMAE, 2012; NICOLODI; FARINA, 2010).

A segunda maior concentração de cafeína na água tratada foi determinada em Campo Grande, onde foi observada também a maior diferença na concentração de cafeína entre amostras coletadas em uma mesma campanha amostral, $6,0 \text{ ng L}^{-1}$ e 1793 ng L^{-1} . Variações significativas como às observadas em Campo Grande podem ocorrer, considerando que as amostras são coletadas em diferentes pontos amostrais, que por sua vez podem ser abastecidos por diferentes sistemas de tratamento de água. Contudo, em Campo Grande embora as duas amostras tenham sido coletadas em diferentes locais, a água tratada é proveniente de um mesmo sistema e por isso um dos valores acima pode ser um “outlier”. Neste caso, um número maior de amostras teria que ser coletadas para que fosse possível realizar um estudo mais detalhado a fim de gerar resultados mais representativos da concentração de cafeína na água tratada proveniente desse sistema de abastecimento da cidade de Campo Grande.

Em Curitiba, as concentrações de cafeína na água tratada variaram entre $4,2$ e 167 ng L^{-1} , sendo observado um aumento na concentração determinada nas amostras coletadas na segunda campanha amostral e também variações na concentração de cafeína nas amostras coletadas em diferentes sistemas de abastecimento. Já em Florianópolis foram encontradas as menores concentrações de cafeína na água tratada, $3,9 \text{ ng L}^{-1}$ (1ª campanha) e 19 ng L^{-1} (2ª campanha). Na Figura 14 é apresentado um resumo dos resultados para cafeína na água tratada e manancial nas capitais da região Sul e também Campo Grande.

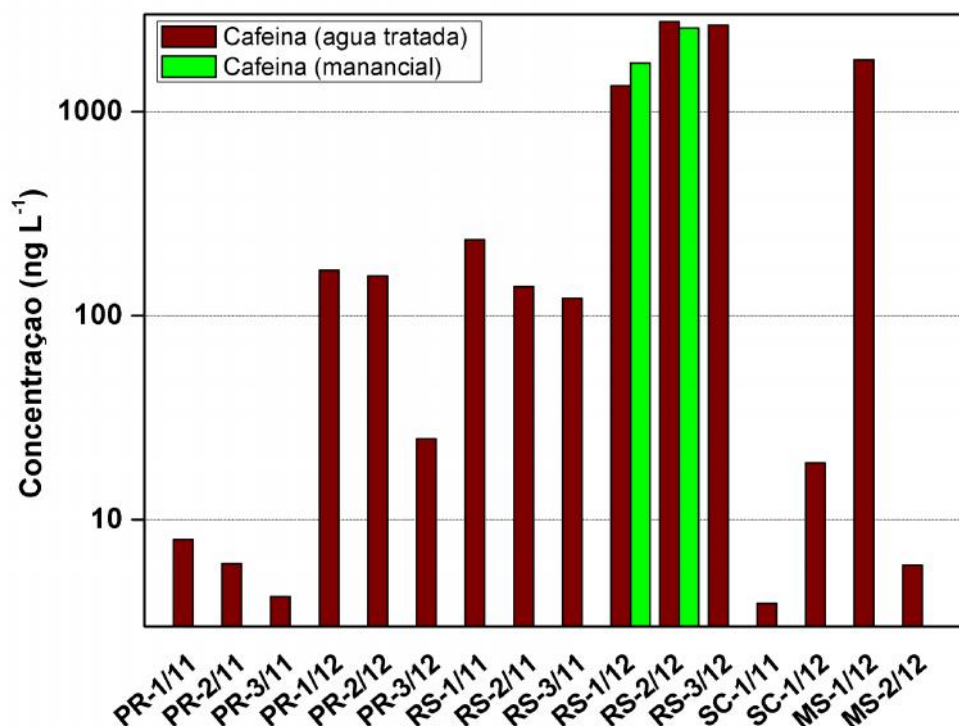


Figura 14 - Cafeína na água tratada e manancial em amostras coletadas nas cidades de Porto Alegre, Curitiba, Florianópolis e Campo Grande.

A atrazina também foi detectada nas amostras coletadas nas capitais listadas na Tabela 10, porém com uma frequência de detecção menor que a observada para cafeína. A atrazina foi detectada em 14 das 16 amostras de água tratada coletadas nas duas campanhas (2011 e 2012), o que corresponde a uma frequência de detecção de 81 %. A atrazina também foi encontrada nas duas amostras coletadas no lago Guaíba em Porto Alegre, em uma concentração de 3,0 ng L⁻¹.

Na água tratada, as maiores concentrações de atrazina foram encontradas nas amostras coletadas em Florianópolis e Campo Grande, ambas na segunda campanha. Contudo, as concentrações de atrazina na água tratada foram significativamente menores que as de cafeína para a maioria das amostras analisadas. A variação entre a menor e a maior concentração de atrazina na água tratada (2,0 e 15 ng L⁻¹, respectivamente) também foi menor que a variação observada para cafeína (4,0 e 2769 ng L⁻¹). Na Figura 15 é apresentado um resumo

dos resultados para atrazina na água tratada e manancial nas capitais Curitiba, Porto Alegre, Florianópolis e Campo Grande.

De um modo geral, a concentração de contaminantes emergentes na água tratada das capitais da região Sul assim como em Campo Grande foram maiores nas amostras coletadas na segunda campanha do que naquelas coletadas na primeira campanha. Para cafeína foram observadas concentrações de cinco a vinte vezes maiores e para atrazina de uma a sete vezes maiores. Embora as duas campanhas amostrais tenham sido realizadas em anos diferentes, as coletas foram conduzidas dentro de um mesmo período (junho-setembro de 2011 e 2012). Contudo, variações no nível de precipitação em períodos próximos ao da coleta pode levar a variação na concentração desses poluentes nos mananciais.

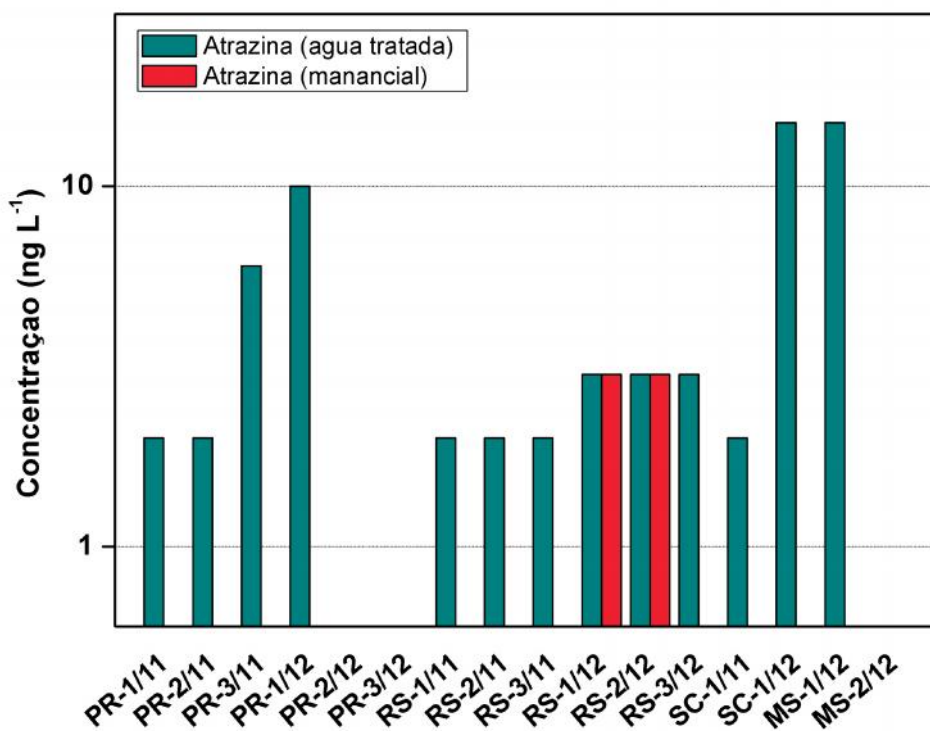


Figura 15 - Atrazina na água tratada e manancial em amostras coletadas nas cidades de Porto Alegre, Curitiba, Florianópolis e Campo Grande.

Como o abastecimento de água nestas capitais é realizado principalmente a partir de águas superficiais, tais variações podem refletir também na concentração dos poluentes na água tratada. A Figura 16 mostra a concentração média de cafeína

na água tratada, referente às amostras coletadas em Curitiba e Porto Alegre, em função do volume de precipitação registrado nessas cidades no período de coleta.

Em Curitiba, a coleta no ano de 2011 foi realizada no mês de agosto, enquanto que em 2012 foi realizada no mês de julho. Dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2015), mostram que o volume médio de precipitação nesses meses foi de 260,9 e 108,9 mm, respectivamente.

Em Porto Alegre as coletas foram realizadas em setembro de 2011 e junho de 2012. Nesses meses o volume médio de precipitação registrado foi de 53 e 31,9 mm, respectivamente.

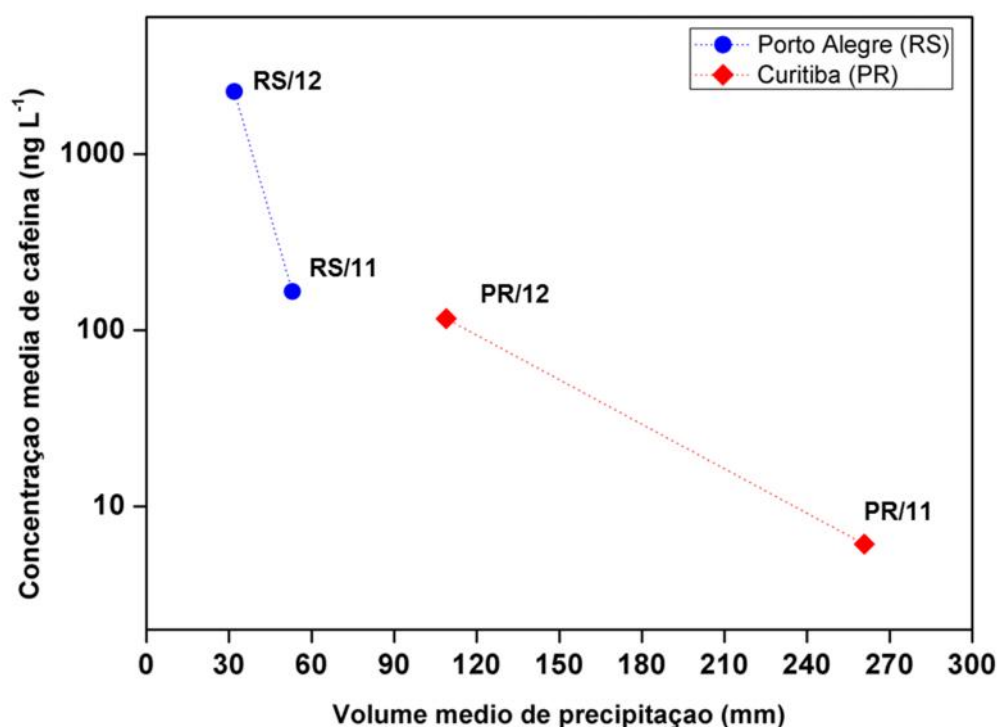


Figura 16 – Concentração média de cafeína na água tratada vs. Volume de precipitação (mm). PR/11 e PR/12: amostras coletadas em Curitiba em 2011 e 2012, respectivamente. RS/11 e RS/12: amostras coletadas em Porto Alegre em 2011 e 2012.

Relacionando os volumes de precipitação nos períodos de coleta com as concentrações encontradas para cafeína na água tratada nessas duas capitais é possível observar que na segunda campanha amostral onde foram encontradas as

maiores concentrações de cafeína foi também registrado os menores volumes de precipitação. Isso pode ser um dos fatores que explica as diferenças de concentração observadas entre as duas campanhas amostrais.

Variações nas concentrações de contaminantes emergentes em águas superficiais em decorrência de variações sazonais já foram demonstradas em outros trabalhos, onde foi observado um aumento na concentração desses contaminantes em função da diminuição no nível de precipitação (ALVAREZ *et al.*, 2014; MONTAGNER; JARDIM, 2011). No entanto, não foi estabelecida uma relação entre a variação de contaminantes emergentes na água tratada em função de variações sazonais.

Trabalhos anteriores realizados no Brasil já haviam relatado a presença da cafeína e outros contaminantes emergentes tanto na água tratada quanto em águas superficiais que são utilizadas como mananciais de abastecimento (SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010a; MONTAGNER; JARDIM, 2011; CALDAS *et al.*, 2013). No entanto, observa-se que no Brasil as concentrações detectadas de cafeína na água tratada são maiores que aquelas encontradas em estudos similares realizados em outros países, conforme mostrado na Tabela 11.

Tabelas 11 – Cafeína em águas de abastecimento em diversos países.

País/Localidade	Concentração Máxima (ng L ⁻¹)	Frequência de Detecção (%)	Referência
Brasil (Porto Alegre)	2769	100	Canela et al, 2014
Brasil (Campo Grande)	1793	100	Canela et al, 2014
Brasil (Curitiba)	167	100	Canela et al, 2014
Brasil (Florianópolis)	19	100	Canela et al, 2014
Brasil (Campinas)	220	100	Sodré et al, 2010
Espanha	392	100	Boleda et al, 2011
Itália	53	n.i	Loos et al, 2007
Canadá	40	n.i	Viglino et al, 2008
França	82	n.i	Mompelat et al, 2011
Estados Unidos	181	n.i	Wang et al, 2011

n.i: não informado

A ampla detecção de cafeína nas águas destinadas ao abastecimento público das capitais brasileiras está diretamente relacionada com o aporte de esgoto doméstico não tratado nos mananciais de abastecimento. A cafeína, assim como outros compostos orgânicos de origem antrópica que possuem maior tempo de permanência no ambiente, que são menos suscetíveis a degradação ou que são degradados mais lentamente tem sido proposta como indicadores de contaminação por esgoto doméstico (DANESHVAR *et al.*, 2012).

Vários trabalhos têm apontado a presença de cafeína em águas superficiais em outros países do mundo (BUENO *et al.*, 2012; KNEE *et al.*, 2010; LEUNG *et al.*, 2013; LIMA GOMES *et al.*, 2013). Entretanto, em países onde os serviços de coleta e tratamento de esgoto são mais eficientes a cafeína é utilizada como um marcador para indicar a ocorrência de vazamentos na rede de esgoto (CONLEY *et al.*, 2008; STACKELBERG *et al.*, 2007). No Brasil, a presença de cafeína em águas naturais e até mesmo na água tratada é esperada devido aos baixos índices de coleta e tratamento de esgoto, visto que o lançamento de efluentes domésticos sem tratamento nos corpos d'água pode ser apontado como a principal fonte de aporte dessa substância.

O consumo moderado de cafeína não apresenta riscos à saúde dos seres humanos e as concentrações de cafeína encontradas nas amostras de água tratada e nas águas de manancial são consideravelmente inferiores à concentração de cafeína em uma xícara de café, por exemplo. Contudo, a sua presença em ambientes aquáticos naturais e na água tratada pode fornecer informações importantes a respeito da contaminação dos mesmos por outras substâncias de maior toxicidade. Recentemente, foi evidenciado que amostras de águas naturais avaliadas quanto à presença de cafeína, também apresentaram resultados positivos frente a ensaios de atividade estrogênica. A resposta positiva de uma amostra a testes de estrogenicidade indica a presença de substâncias que são capazes de interferir no sistema hormonal e endócrino dos seres vivos, podendo causar efeitos adversos aos mesmos (MONTAGNER *et al.*, 2014b).

Dentre as 16 substâncias investigadas nesse estudo, a atrazina é a única substância legislada, sendo permitida sua presença tanto em água potável quanto em águas superficiais em até $2 \mu\text{g L}^{-1}$ (CONAMA, 2005; MS, 2011). Os níveis de atrazina encontrados nesse estudo para água tratada e manancial mostraram que essa substância está presente nas amostras analisadas dentro do limite máximo

estabelecido pelas legislações vigentes. Entretanto, é importante salientar que o estabelecimento de tais limites é realizado com base em ensaios toxicológicos e neurotoxicológicos, não levando em consideração possíveis efeitos estrogênicos que esse poluente pode causar aos seres vivos quando expostos cronicamente a baixas concentrações.

5.2 PARTE 2

5.2.1 Otimização do método cromatográfico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS

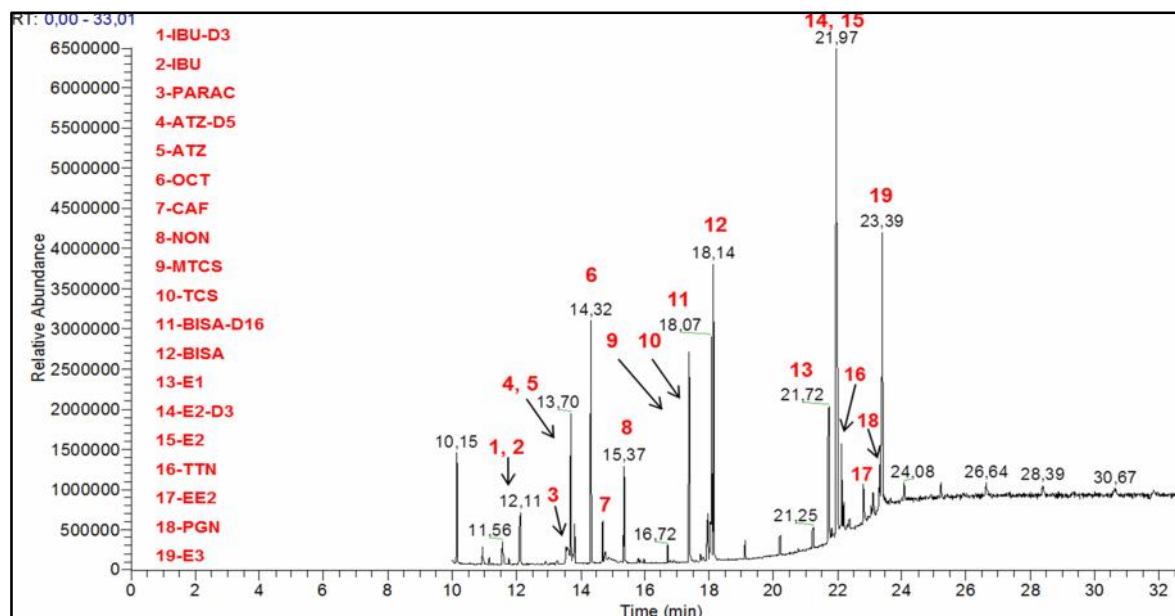
Os estudos preliminares foram realizados com o objetivo de se obter um cromatograma contendo todas as substâncias em estudo e seus respectivos espectros de massas. Isso possibilitou a identificação dos tempos de retenção (t_R) correspondente a cada substância de interesse e do pico referente ao sinal mais intenso no espectro de massas, possibilitando assim, a seleção dos valores de razão massa/carga (m/z) a serem utilizados na quantificação de cada composto-alvo.

Foi identificado também no espectro de massas, o sinal referente ao íon molecular de cada uma das substâncias de interesse. Para identificação e quantificação de cada composto-alvo normalmente é escolhida a razão massa/carga (m/z) de maior abundância relativa, ou seja, o sinal de maior intensidade, enquanto que para confirmação, ou identificação pode ser selecionado o próprio íon molecular ou o m/z referente ao segundo sinal de maior abundância relativa. O importante é que a escolha desses valores de m/z seja realizada de tal modo que seja possível diferenciar inequivocamente cada substância.

Para escolha dos valores de massa/carga, primeiramente foi realizada a injeção de uma solução contendo 19 substâncias padrão (solução mix19) na concentração de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$. A solução a ser analisada foi previamente submetida a uma reação de derivatização de sililação empregando o reagente silanizante BSTFA, pois a maioria das substâncias de interesse possui baixa volatilidade e por isso requerem a modificação de alguns grupos funcionais a fim de melhorar sua

detectabilidade. O cromatograma obtido no modo de varredura *fullscan* é mostrado na Figura 17a. O pico cromatográfico do composto 17 -etinilestradiol (EE2) e seu espectro de massas são mostrados na Figura 17b.

(a)



(b)

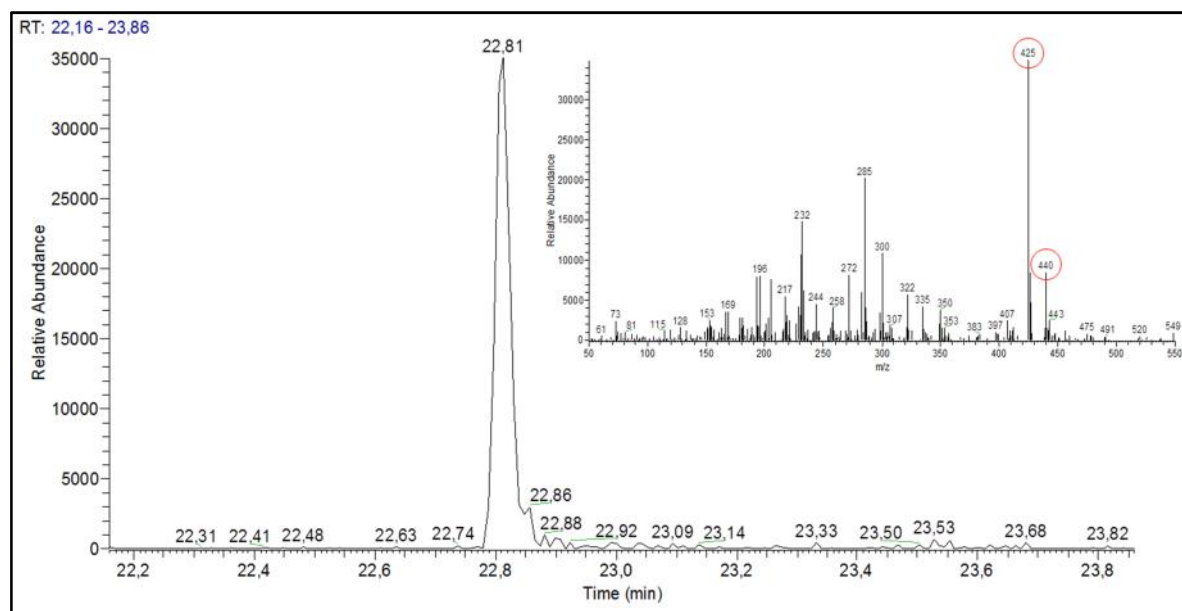


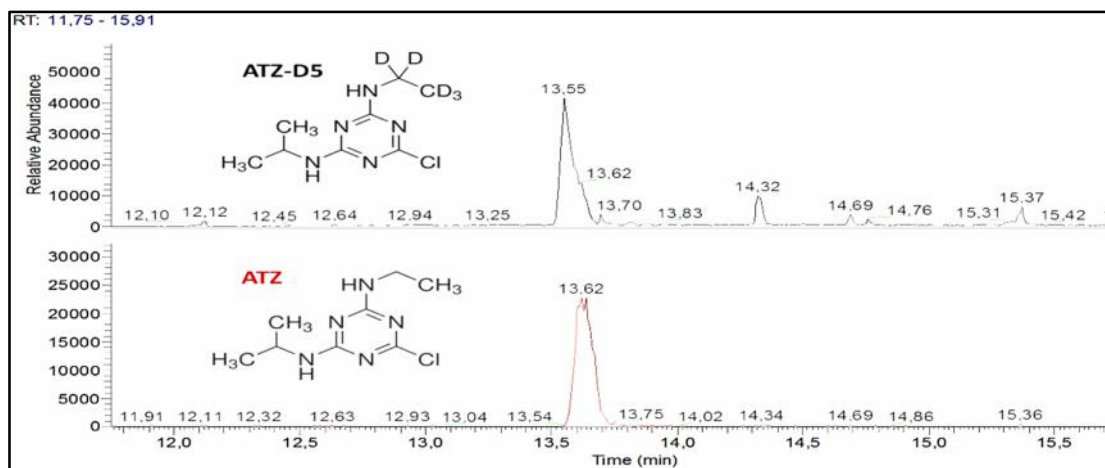
Figura 17 - (a) Cromatograma de íons totais para os 19 contaminantes emergentes em estudo após derivatização (Concentração: $0,50 \text{ mg L}^{-1}$). (b) Cromatograma de íon extraído para o composto EE2 ($t_R = 22,81 \text{ min}$) e espectro de massas com destaque para os fragmentos $m/z = 425$ (quantificação) e $m/z = 440$ (confirmação).

A identificação dos valores de m/z de quantificação e confirmação foi realizada ampliando-se a visualização de cada pico do cromatograma e analisando o espectro de massas correspondente, conforme mostrado na Figura 17b. A partir dessa análise, da comparação com dados da literatura e também da comparação com espectros existentes na biblioteca de espectros de massas que acompanha o software do equipamento, foi possível selecionar, para a maioria das substâncias de interesse, os fragmentos de razão massa/carga (m/z) característicos de cada uma delas.

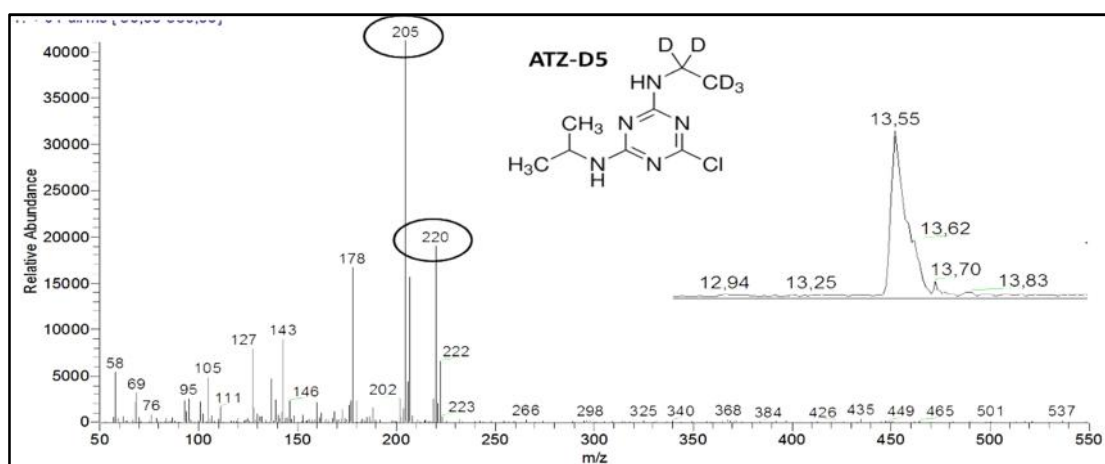
Em alguns casos, como o das substâncias deuteradas, onde não foram encontrados espectros de massas na biblioteca para comparação, foi necessário realizar injeções de soluções padrão contendo essas substâncias em diferentes concentrações para avaliar o aumento do pico cromatográfico em função do aumento da concentração. Selecionando os picos cromatográficos e correlacionando os tempos de retenção com os respectivos espectros de massas foi possível identificar os valores de m/z de quantificação e confirmação também para as substâncias deuteradas.

As substâncias deuteradas também podem coeluir com seus pares não deuterados durante a cromatografia, como observado para os compostos ibuprofeno/ibuprofeno-D3, atrazina/atrazina-D5 e 17 -estradiol/17 -estradiol-D3 na Figura 17a. Para esses compostos não foi possível diferenciar o pico cromatográfico dos compostos não deuterados dos respectivos pares deuterados. Entretanto, quando o detector acoplado ao cromatógrafo é um espectrômetro de massas não há a necessidade de se obter um cromatograma onde todos os compostos estejam perfeitamente resolvidos, pois uma vez que se tenha a informação sobre o valor de m/z de maior abundância relativa de cada substância é possível, com o auxílio do *software*, selecionar apenas o pico cromatográfico referente a uma determinada substância através do valor de m/z e dessa forma diferenciar essa substância das demais, mesmo que estejam coeluinto. Para os compostos deuterados, como a única diferença na molécula é a substituição de um determinado átomo por seu respectivo isótopo, apesar de ser observada a co-eluição é possível diferenciar e quantificar cada substância devido aos valores de m/z serem diferentes para a molécula deuterada e a não deuteradas. Nas Figuras 18a, 18b e 18c é mostrado o exemplo da atrazina e seu par isotópico a atrazina-D5.

(a)



(b)



(c)

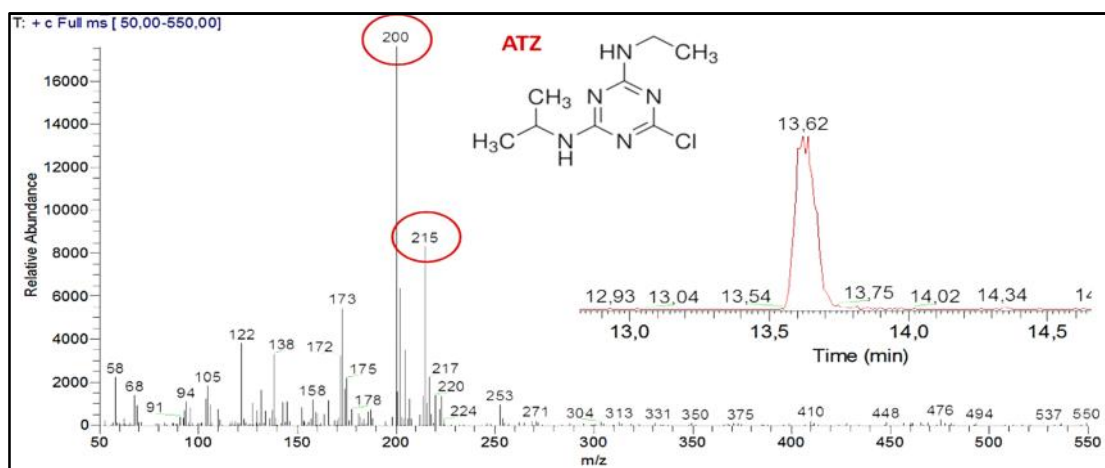


Figura 18 - (a) Cromatograma de íon extraído da ATZ-D5 ($t_R = 13,55$ min) e ATZ ($t_R = 13,62$ min). (b) Espectro de massas da ATZ-D5 ($m/z_{\text{quantificação/confirmação}}$: 205/220). (c) Espectro de massas ATZ ($m/z_{\text{quantificação/confirmação}}$: 200/215). (Concentração da solução padrão: $0,50 \text{ mg L}^{-1}$).

Na Tabela 12 estão listados os valores de m/z de quantificação e confirmação para todas as substâncias numeradas no cromatograma da Figura 17a.

Tabela 12 – Valores de m/z de quantificação e confirmação para 15 contaminantes emergentes e 4 substâncias deuteradas

Substância	Massa Molar (g mol ⁻¹)	Massa Molar (após derivatização) (g mol ⁻¹)	m/z (1) (quantificação)	m/z (2) (confirmação)
Ibuprofeno-D3	208	280	163	266
Ibuprofeno	205	277	160	263
Paracetamol	151	223	181	223
Atrazina-D5	220	220	205	220
Atrazina	215	215	200	215
Octilfenol	206	278	179	278
Cafeína	194	194	194	194
Nonilfenol	220	292	179	292
Metil-Triclosan	303	303	303	252
Triclosan	289	361	200	345
Bisfenol A-D16	244	388	368	386
Bisfenol A	228	372	357	372
Estrona	270	342	342	257
Estradiol-D3	275	419	419	285
Estradiol	272	416	416	285
Testosterona	288	360	226	360
Etinilestradiol	296	440	425	440
Progesterona	314	314	124	314
Estriol	288	504	296	504

Uma vez escolhidos os fragmentos de quantificação e confirmação para todos os analitos, a etapa seguinte do trabalho consistiu na realização de um planejamento fatorial 2^{5-1} , através do qual se procurou avaliar o efeito de variáveis que pudessem ser relevantes para o desenvolvimento e otimização do método cromatográfico. Vários fatores (ou variáveis) podem influenciar o sinal analítico em

uma análise cromatográfica, principalmente quando se trabalha com uma gama de substâncias com características diferentes, como é o caso dos contaminantes emergentes selecionados para esse trabalho. Nesse sentido optou-se por realizar um planejamento fatorial levando-se em conta alguns parâmetros operacionais mais usuais do GC-MS que podem ser controlados para obtenção de melhores resultados nas determinações quantitativas. São eles, temperatura do injetor, temperatura da linha de transferência, pulso de pressão, tempo do pulso de pressão e tempo de splitless.

O controle da temperatura do injetor é importante porque ela deve ser suficientemente elevada para garantir que todos os analitos sejam rapidamente vaporizados e então conduzidos para o interior da coluna pelo gás de arraste (nesse caso o He). Contudo, não pode ser elevada em demasia, a ponto de promover a decomposição dos analitos, pois isso prejudicaria sua determinação (SKOOG *et al.*, 2006; HARRIS, 2012). No caso da temperatura da linha de transferência, é interessante que ela seja mantida em um patamar igual ou superior ao da temperatura da coluna no final da análise, de modo que os analitos menos voláteis permaneçam na forma gasosa ao atingirem o detector. Porém, essa temperatura não pode exceder a temperatura máxima de trabalho da coluna, que é determinada pelo fabricante, tanto para preservar a coluna como também porque muitas substâncias orgânicas podem decompor-se quando submetidas a temperaturas muito elevadas (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; HARRIS, 2012).

O modo de injeção escolhido foi injeção sem divisão de fluxo, mais conhecido como *splitless*. Trata-se de um modo de injeção mais apropriado para análise de amostras cujas substâncias de interesse estejam em concentrações a nível traço, pois permite que toda amostra injetada entre na coluna. No modo de injeção *splitless*, os analitos permanecem certo tempo na zona de evaporação do injetor até serem totalmente vaporizados e enviados para a coluna. Esse tempo pode ser otimizado de modo a garantir a total transferência dos compostos de interesse para a coluna (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

Outro parâmetro que pode influenciar o transporte dos analitos do injetor para a coluna é o fluxo de gás de arraste que tem a função de conduzir a amostra vaporizada através da coluna. Aplicando um pulso de pressão no momento da injeção por um determinado tempo e mantendo a válvula de purga fechada, pode ajudar a remover quaisquer vapores que escapem da zona de evaporação e fazer

com que mais amostra entre na coluna, diminuindo perdas e aumentando a intensidade do sinal analítico (HARRIS, 2012).

Como o número de variáveis descritas anteriormente levaria a realização de um número muito grande de ensaios se utilizado um planejamento fatorial completo 2^5 , optou-se pela realização de um planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} . Para um planejamento completo 2^5 , por exemplo, seriam necessários 32 ensaios, enquanto que para um planejamento fracionário 2^{5-1} , com 16 ensaios podem ser obtidas as mesmas informações desejadas. Outro fator importante diz respeito às interações entre as variáveis, ou seja, os efeitos. O número de interações de ordem alta aumenta com o número de variáveis, entretanto, na maioria dos casos essas interações têm valores muito pequenos e que por isso não devem afetar significativamente a resposta. Dessa forma, na maioria dos casos onde as variáveis investigadas são muitas, não justifica fazer um número grande de ensaios propostos por um planejamento fatorial completo (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Nos planejamentos fatoriais fracionários 2^{5-1} , as interações de 2 fatores são identidades das interações complementares de 3 fatores, ou seja, os valores calculados para os efeitos de segunda ordem para a combinação dos fatores 1 e 2, por exemplo, são numericamente iguais aos efeitos de terceira ordem para a combinação dos fatores 3,4 e 5, e assim sucessivamente. Isso leva aos chamados confundimentos entre os efeitos de segunda ordem e os efeitos de terceira ordem, o que torna a interpretação dos planejamentos fracionários mais complexa. Para decidir se a interação significativa é de segunda ou terceira ordem é necessário avaliar os efeitos de primeira ordem (efeitos principais). Dessa forma, variáveis que não apresentam efeitos significativos de primeira ordem dificilmente serão significativas em ordens superiores. Assim, é possível inferir se o efeito mais significativo é o de segunda ordem, de terceira ordem, ou ainda se ambos são igualmente significativos.

Os resultados obtidos a partir do planejamento 2^{5-1} mostraram efeitos principais para os compostos paracetamol, atrazina, atrazina-D5 e cafeína. Para os demais compostos não foram observados efeitos. A representação geométrica para o resultado do planejamento 2^{5-1} para o paracetamol, atrazina e atrazina-D5 é apresentada na Figura 19. Os valores apresentados nos vértices e no centro do

cubo são referentes às áreas de pico do analito. Os cálculos dos efeitos para esse planejamento encontram-se na Tabela A1.1 ANEXO 1.

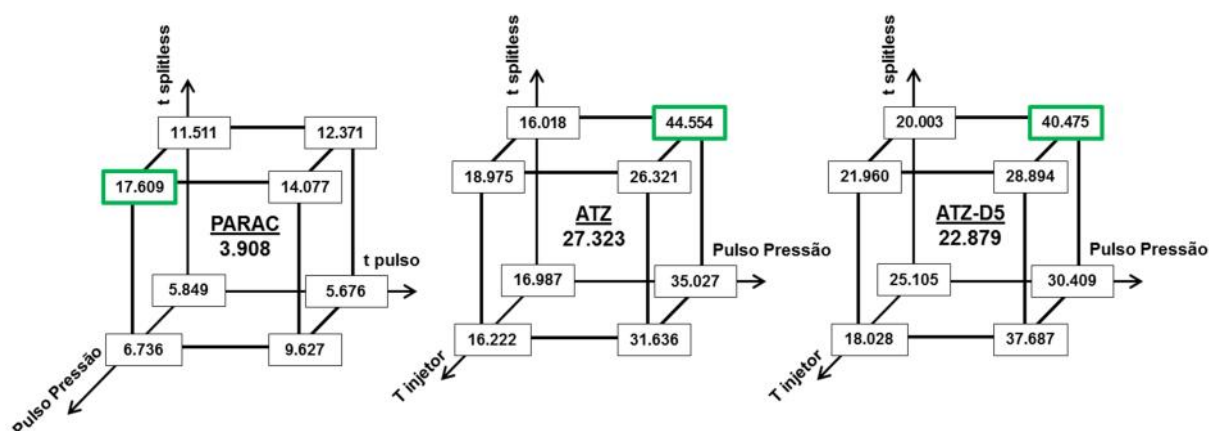


Figura 19 - Representação geométrica para os compostos que apresentaram efeito de terceira ordem no planejamento fatorial 2^{5-1} realizado para otimização do método cromatográfico. Concentração: $500 \mu\text{g L}^{-1}$. Ponto central: $n=3$

No caso do paracetamol foi observado o confundimento entre a interação de 2ª ordem referente aos fatores **1-T injetor** e **2-T linha transferência** com a interação de 3ª ordem entre os fatores **3-Pulso de pressão**, **4-t pulso de pressão** e **5- t splitless** e, entre a interação de 2ª ordem referente aos fatores **4-t pulso de pressão** e **5- t splitless** com a interação de 3ª ordem entre os fatores **1-T injetor**, **2-T linha transferência** e **3-Pulso de pressão** (vide ANEXO 1, Tabela A1.1). Nas duas situações, há 2 fatores que estão contribuindo para os efeitos de 3ª ordem e que também apresentaram efeito principal, enquanto que para os efeitos de 2ª ordem somente um dos fatores que está contribuindo apresentou efeito principal. Sendo assim, é mais provável que no caso do paracetamol os efeitos de 3ª ordem sejam mais importantes que os efeitos de 2ª ordem e que tanto as interações dos fatores **345** quanto as interações dos fatores **123** contribuem para melhora da resposta para o paracetamol, pois ambos levam aos maiores valores de área para esse composto.

Para a atrazina e atrazina-D5, além de efeitos de 1ª ordem também foram observados efeitos de 2ª e 3ª ordem. Quando avaliada a contribuição dos efeitos de 1ª ordem nos efeitos de ordem superior para a atrazina, foi possível observar que os fatores **1-T injetor** e **3-Pulso de pressão** contribuem para os efeitos de 2ª ordem e também para os efeitos de 3ª ordem e dessa forma, pode-se atribuir que tanto as

interações de 2ª ordem quanto as interações de 3ª ordem são significativas para o aumento dos valores de área para atrazina. Entretanto, para a atrazina-D5 esperava-se um comportamento semelhante ao da atrazina, mas ao contrário do seu par não deuterado, esta apresentou apenas efeito principal para o fator **3-Pulso de pressão**. Contudo, é provável que a interação de 3ª ordem seja significativa também para atrazina-D5, pois a temperatura do injetor que foi significativa para a atrazina não deuterada deve ser também significativa para a atrazina deuterada.

Para a cafeína também foi observado efeito de primeira ordem para o fator **3-Pulso de pressão**, onde a utilização do nível (+) para o pulso de pressão favorece o aumento da área de pico para a cafeína. Embora não tenham sido observados efeitos para os demais compostos avaliados pelo planejamento 2^{5-1} , foi observado que as melhores respostas para aqueles compostos que não apresentaram efeitos foram obtidas para o ensaio onde os fatores foram avaliados nos seguintes níveis: **1-T injetor** (250 °C), **2-T linha transferência** (300 °C), **3-Pulso de pressão** (150 kPa), **4-t pulso de pressão** (0,20 min) e **5- t splitless** (3 min). Essas também foram as condições ótimas indicadas pelo planejamento para os compostos que apresentaram efeito (paracetamol, atrazina, atrazina-D5 e cafeína) e foram portanto, utilizadas em todos os ensaios posteriores.

O planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} permitiu que, a partir de um número reduzido de experimentos, fosse possível avaliar conjuntamente vários fatores que podem ter influência na resposta cromatográfica referente aos 15 analitos e 4 padrões deuterados avaliados nesse trabalho, tornando possível o estabelecimento de condições experimentais ótimas para a determinação cromatográfica dos mesmos dentro dos limites estabelecidos no planejamento.

5.2.2 Otimização do protocolo de derivatização

Das substâncias de interesse nesse estudo, considerando também os padrões isotópicos, somente cinco puderam ser determinadas diretamente por GC-MS. São elas, atrazina, atrazina-D5, cafeína, metil-triclosan e progesterona. As demais substâncias precisaram ser submetidas a uma reação de derivatização antes da determinação cromatográfica. Todas as substâncias que foram submetidas à

reação de derivatização, apesar de pertencerem a diferentes classes (grupos) de compostos químicos, tem em comum a presença de grupos hidroxilas (-OH) em sua estrutura. O hidrogênio do grupo hidroxila é suscetível a ser substituído por um grupo alquilsilil (por exemplo, o trimetilsilil (-Si(CH₃)₃)) quando na presença de um reagente silanizante, conforme ilustrado na equação 1.



Equação 1 – Representação geral da reação de sililação para compostos hidroxilados na presença de reagente silanizante contendo grupo alquilsilil.

A reação de derivatização nesses casos é chamada de sililação e compostos como, fenóis, ácidos carboxílicos, álcoois, esteroides, entre outros, costumam ser derivatizados com sucesso quando na presença desses reagentes silanizantes. (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; SOLOMONS; FRYHLE, 2006).

A Figura 20 mostra a comparação das áreas de pico antes e após a reação de derivatização para as quatro substâncias deuteradas avaliadas nesse trabalho.

Das quatro substâncias apresentadas na Figura 20, somente a molécula da atrazina-D5 não possui grupo(s) hidroxila(s) e, portanto não é derivatizada na presença do BSTFA. No entanto, ela foi adicionada ao meio para verificar se a mesma poderia ser afetada de alguma forma durante a reação de derivatização, uma vez que na determinação dos contaminantes emergentes investigados nesse trabalho as substâncias que necessitam ser derivatizadas e as que podem ser analisadas diretamente serão submetidas todas aos mesmos procedimentos de preparo de amostra, incluindo a derivatização.

Os resultados obtidos mostram que não houve variação significativa na resposta da ATZ-D5 quando submetida ou não a reação de derivatização, confirmando então que essa é uma substância que pode ser determinada diretamente via GC-MS e que o fato de ela estar presente durante o processo de derivatização não altera a sua resposta. Por outro lado, para as outras três substâncias, foram observadas diferenças significativas nos valores de área de pico quando elas foram analisadas na sua forma não derivatizada e após derivatização. O ibuprofeno deuterado só foi detectado estando na forma derivatizada. Já o

bisfenolA-D16 e o estradiol-D3, em suas formas derivatizadas, apresentaram áreas de pico 3 a 4 vezes maiores quando comparadas com os valores de área obtidos para os mesmos compostos na forma não derivatizada.

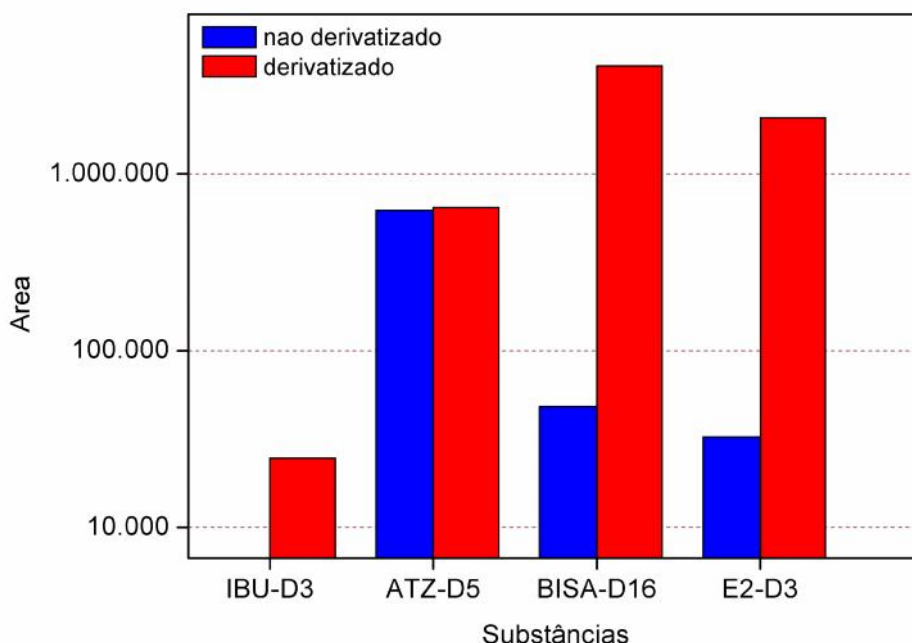


Figura 20 - Comparação entre a média das áreas de pico ($n=3$) de quatro substâncias deuteradas (concentração: $1000 \mu\text{g L}^{-1}$) analisadas por GC-MS na sua forma não derivatizada e após reação de derivatização. Condições da derivatização: banho termostatizado a 75°C por 90 min, $100 \mu\text{L}$ BSTFA.

Os fatores que aumentam a detectabilidade das formas derivatizadas estão relacionados com as mudanças nos grupos funcionais dessas substâncias. O derivado do ibuprofeno-D3, por exemplo, passa a ser um éster e não mais um ácido carboxílico como na forma não derivatizada. Os ésteres têm pontos de ebulição mais baixos quando comparado com os ácidos carboxílicos correspondentes e são também mais voláteis. O mesmo ocorre com os éteres derivados dos álcoois e/ou fenóis, como é o caso do derivado do bisfenolA-D16. A conversão de álcoois ou fenóis a éteres silílicos os tornam muito mais voláteis e consequentemente mais acessíveis à análise por GC-MS. Os hormônios esteroides, como o estradiol-D3, também são compostos de baixa volatilidade, muito em função de alguns grupos polares presentes em suas estruturas e por isso a conversão desses grupos funcionais por meio da reação de derivatização com grupos trimetilsilil, também melhora a detectabilidade desses compostos (SOLOMONS; FRYHLE, 2006).

Embora a derivatização seja essencial para determinação dessas substâncias por GC-MS - principalmente quando elas se encontram em concentração a nível traço na matriz de interesse - essa pode ser uma das etapas mais críticas do protocolo analítico, podendo ser inclusive a etapa determinante para se obter boa exatidão e precisão (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2011).

Normalmente, nos trabalhos apresentados na literatura para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS há uma etapa de derivatização (HUANG *et al.*, 2009; LEI *et al.*, 2009; ANDRÁSI *et al.*, 2011b; PESSOA *et al.*, 2012). Entretanto, não há um método oficial ou validado para a determinação de uma variedade de contaminantes em uma dada matriz, nem mesmo um consenso quanto às condições a serem adotadas na etapa de derivatização e por isso ao se propor um protocolo para determinação dessas substâncias é necessário otimizar a etapa de derivatização.

Inicialmente, um planejamento fatorial 2^3 foi proposto para avaliar os efeitos da quantidade de reagente derivatizante (BSTFA), da temperatura e do tempo da reação de derivatização na resposta cromatográfica (área de pico). A reação de derivatização nesse primeiro planejamento foi realizada em banho termostaticado e os parâmetros para construção do planejamento foram escolhidos com base em trabalhos da literatura.

Os fatores, temperatura de reação e volume de derivatizante se mostraram significativos na resposta do ibuprofeno e ibuprofeno-D3. A representação geométrica para o resultado do planejamento para esses dois compostos é apresentada na Figura 21. Os cálculos dos efeitos são apresentados na Tabela A1.2 do ANEXO 1.

Foi observado um efeito de segunda ordem relacionado à interação entre os fatores temperatura do banho e volume de derivatizante. Houve um aumento na resposta (área de pico) para o Ibuprofeno e Ibuprofeno-D3 quando a temperatura passou de 25°C (nível inferior) para 75°C (nível superior) e o volume de reagente derivatizante utilizado passou de 60 µL para 20 µL. Não foi observado efeito principal ou efeitos de interação relacionados ao tempo de reação para os resultados obtidos com esse planejamento.

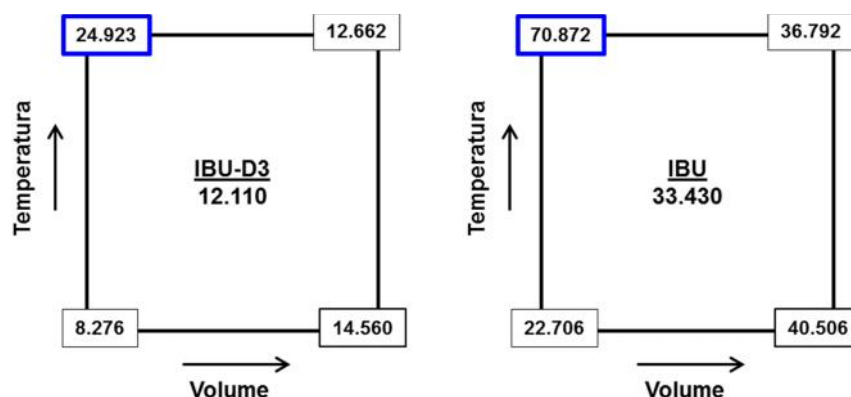


Figura 21 - Representação geométrica do planejamento fatorial realizado para otimização do método de *derivatização*¹. Resultados obtidos para os compostos Ibuprofeno e Ibuprofeno-D3 (concentração: 500 $\mu\text{g L}^{-1}$). Reação de derivatização realizada em banho termostatzado. Ponto central: n=4.

Apesar de não ter sido observado efeito de primeira ordem ou de ordem superior para os demais compostos avaliados foi possível observar uma tendência no aumento da resposta desses compostos frente a uma determinada combinação de variáveis. No caso do PARAC, E2-D3, E2, TTN, E3 e EE2 foram obtidos maiores valores de área nos experimentos onde o volume de derivatizante utilizado foi 100 μL (nível superior), o tempo de reação foi 30 min (nível inferior) e a temperatura 25 °C (nível inferior). Entretanto, para outros compostos (TCS, BISA, E1) foram obtidos melhores valores de área para volume de 20 μL (nível inferior), temperatura de 75 °C (nível superior) e tempo de 90 min (nível superior). Como somente o IBU e IBU-D3 apresentaram efeito de interação e para os demais compostos não foi observado uma tendência única da resposta em função de uma determinada condição optou-se por trabalhar com os valores do ponto central desse planejamento, onde a temperatura e tempo de reação foram, respectivamente, 50 °C e 60 min e o volume de reagente derivatizante de 60 μL .

De acordo com os níveis avaliados para o fator tempo de derivatização nesse primeiro planejamento, mesmo se fosse adotado o tempo de 30 min (nível mínimo) ainda haveria um acréscimo significativo no tempo de preparo de amostra. Sendo assim, decidiu-se tentar reduzir mais o tempo de derivatização realizando outro planejamento fatorial 2^3 . Para esse segundo planejamento optou-se por realizar a reação de derivatização em um forno de micro-ondas doméstico ao invés do banho termostatzado. A utilização do forno micro-ondas no processo de

derivatização e a escolha dos fatores avaliados nesse segundo planejamento foram baseados no trabalho de Bowden e colaboradores (2009).

Ao contrário do planejamento anterior, foram observados efeitos de interação para a maioria dos compostos avaliados. A representação geométrica para os compostos que apresentaram efeitos de terceira ordem para esse segundo planejamento é apresentada na Figura 22. Os cálculos dos efeitos são apresentados na Tabela A1.3 do ANEXO 1.

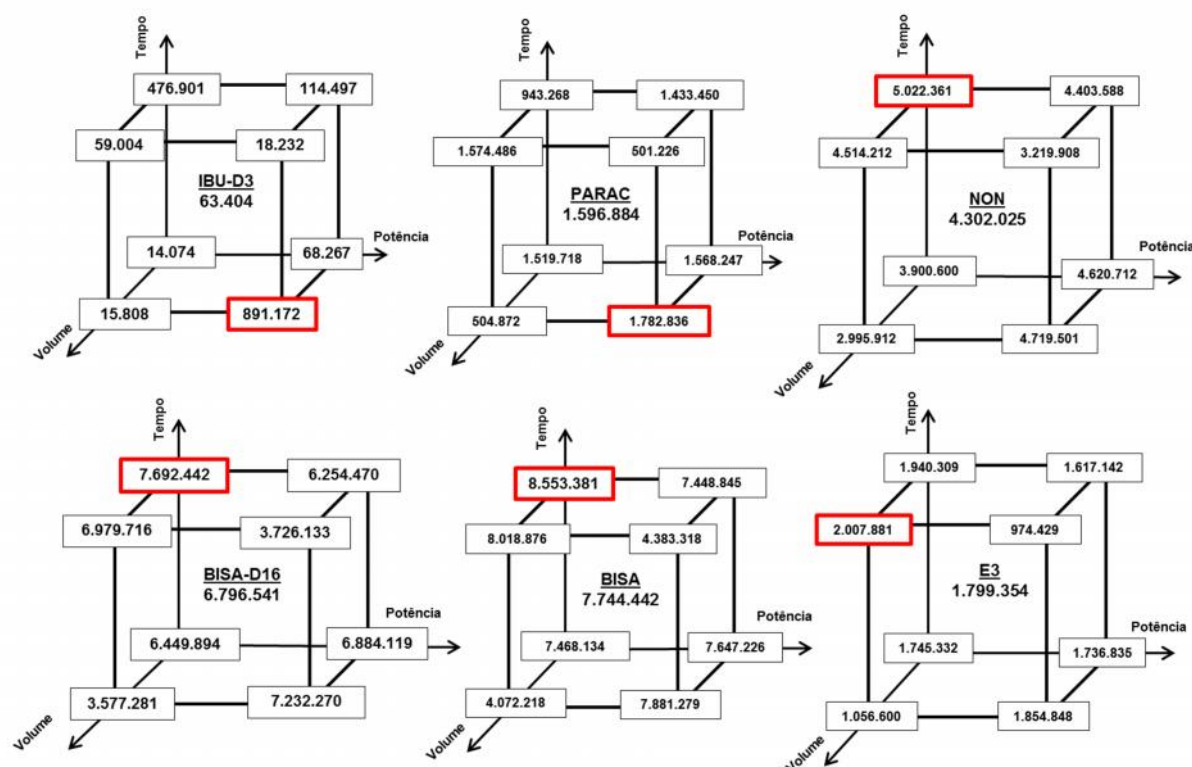


Figura 22 - Representação geométrica do planejamento fatorial realizado para otimização do método de *derivatização*². Resultados obtidos para os compostos Ibuprofeno-D3, Paracetamol, Nonilfenol, Bisfenol A-D16, Bisfenol A e Estriol (concentração: 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$). Reação de derivatização realizada em micro-ondas. Ponto central: n=5.

De acordo com a representação geométrica, os melhores resultados para NON, BISA-D16 e BISA foram alcançados nas condições de menor potência, maior tempo de reação e menor volume do reagente derivatizante BSTFA. Para E3 o mesmo foi observado quanto ao tempo e potência, entretanto a melhor resposta está associada ao uso de maiores volumes de derivatizante. Já para IBU e PARAC, as condições ótimas foram maior potência, menor tempo e maior volume de BSTFA. Contudo, na representação geométrica é possível observar também que para o IBU

e o E3, os segundos maiores valores de áreas de pico foram obtidos quando utilizadas as condições de menor potência, maior tempo de reação e menor volume de BSTFA, ou seja, as condições ótimas para o BISA e o NON.

A utilização de menores volumes de BSTFA diminui o tempo de secagem do derivatizante e com isso minimiza problemas de perda dos analitos por volatilização. Como o resultado do planejamento mostrou que é possível diminuir o volume de derivatizante sem que haja perda significativa na resposta dos analitos, a condição ótima observada para os compostos BISA e NON foi considerada também para o IBU, PARAC e E3. O tempo é um fator que também deve ser levado em conta na escolha de um método, mas considerando que o tempo máximo para a derivatização utilizando o forno micro-ondas é de 5 minutos e que esse tempo é consideravelmente inferior ao tempo de reação no banho termostaticado, a escolha do maior tempo na derivatização utilizando micro-ondas ainda é uma vantagem.

Os compostos octilfenol, triclosan, estrona e estradiol apresentaram efeito de interação de segunda ordem entre potência e tempo de reação. A representação geométrica pode ser observada na Figura 23.

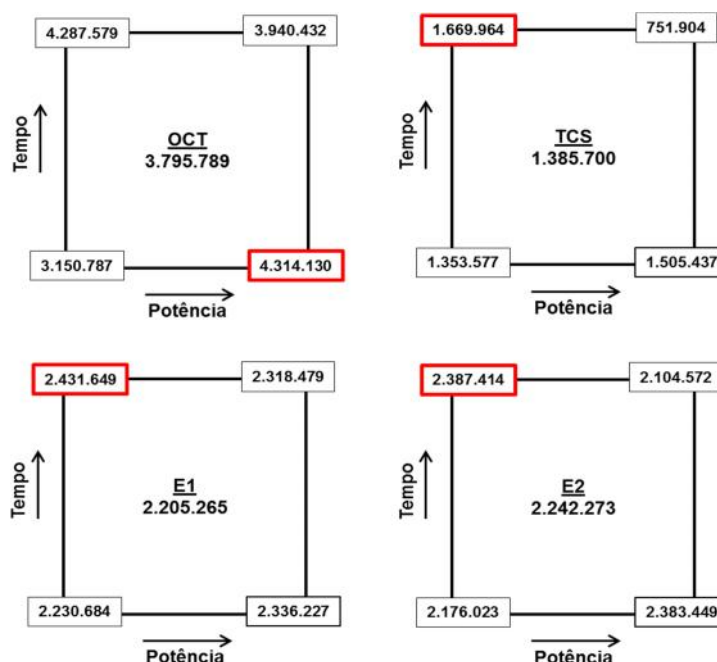


Figura 23 - Representação geométrica do planejamento fatorial realizado para otimização do método de *derivatização*². Resultados obtidos para os compostos Octilfenol, Triclosan, Estrona e Estradiol (concentração: 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$). Reação de derivatização realizada em micro-ondas. Ponto central: n=5.

Os resultados apresentados na Figura 23 demonstram que realizando a reação de derivatização em uma potência de 840 W por 5 min é possível alcançar maiores valores de área de pico para o TCS, E1 e E2. Com os resultados obtidos nesse segundo planejamento, optou-se por realizar a reação de derivatização nas próximas etapas desse trabalho utilizando o forno micro-ondas na potência de 840 W, um tempo de reação de 5 minutos e com 20 μL de derivatizante (BSTFA).

Na Figura 24 é apresentada uma comparação da resposta de todos os compostos frente a reação de derivatização realizada no banho termostaticado e no forno micro-ondas.

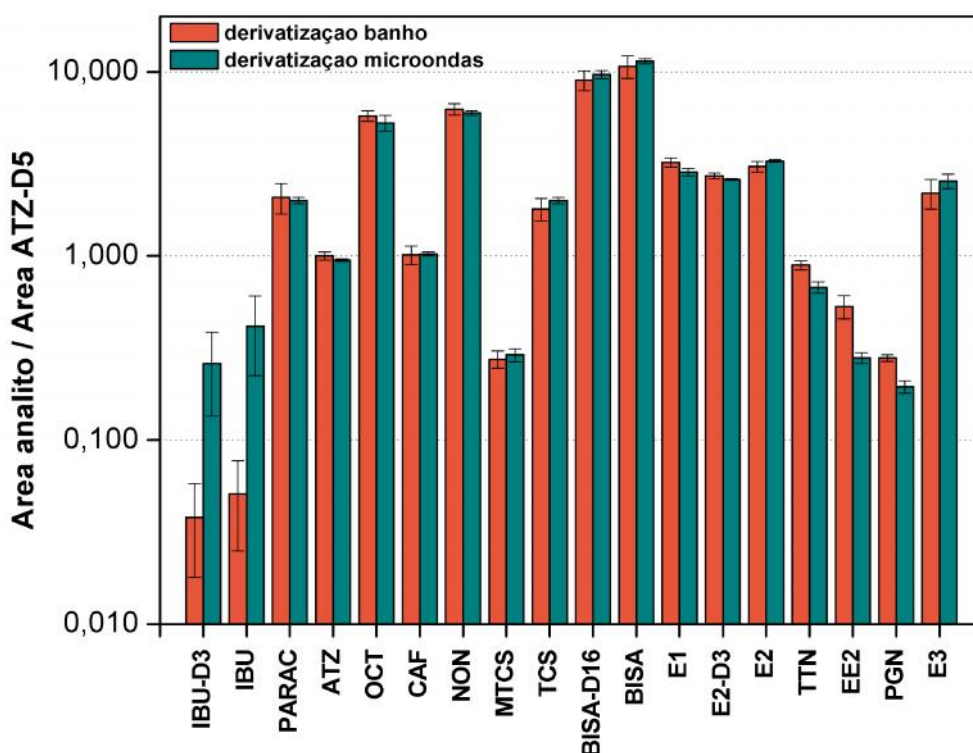


Figura 24 - Comparação entre os resultados obtidos para a derivatização dos contaminantes emergentes realizada em banho termostaticado (50 °C por 60 min e 60 μL de BSTFA) e em micro-ondas (840 W de potência, 5 min e 20 μL de BSTFA). Concentração: 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, n=3.

É possível observar que houve um aumento significativo na resposta para ibuprofeno e ibuprofeno-D3 quando submetidos à reação de derivatização utilizando micro-ondas. Entretanto o mesmo não foi observado para os demais compostos. Contudo a utilização do forno micro-ondas na etapa de derivatização se mostrou

interessante em função da diminuição no tempo de preparo de amostra. O uso de menores volumes de derivatizante, desde que suficientes para que a derivatização seja completa, mostrou-se atraente pelo fato de aparentemente, reduzir perdas por volatilização. Os menores valores de desvio padrão relativo observados na Figura 24 possivelmente estão associados a esse fato.

Nos experimentos realizados para comparação da reação de derivatização realizada no banho termostatizado e no forno-micro-ondas (Figura 24), a atrazina-D5 foi utilizada como padrão interno uma vez que se trata de um composto que não necessita ser submetido à reação de derivatização. A atrazina-D5 foi utilizada como padrão interno em experimentos realizados posteriormente, incluindo a curva analítica. Já os demais compostos deuterados foram escolhidos para serem utilizados como padrão surrogate. Como a resposta deles frente à derivatização é semelhante a dos seus pares não deuterados é interessante utilizá-los para avaliar a recuperação (RIBANI *et al.*, 2004).

A derivatização de contaminantes emergentes por micro-ondas já foi utilizada e descrita por outros autores. Zuo, Zhang e Lin (2007), por exemplo, desenvolveram um método para determinação de hormônios esteroides como a estrona, 17 -estradiol, 17 -etinilestradiol, estriol e mestranol via GC-MS com derivatização prévia dessas substâncias assistida por micro-ondas. Eles avaliaram primeiramente, de modo univariado, o tempo de irradiação por micro-ondas em 15, 30, 60 e 120 segundos, sob uma potência de 800 W e depois avaliaram a influência da potência em 240, 400, 560, 720 e 800 W fixando o tempo em 60 s. O derivatizante utilizado foi o BSTFA+TMCS e o volume fixado em 50 µL. Para todos os hormônios, o melhor resultado observado pelos autores, ou seja, a maior relação área analito/área padrão interno foi obtida quando a derivatização foi realizada na potência de 800 W num tempo de reação de 60s. De acordo com os autores, em tempos inferiores a 30s de irradiação e sob potências menores que 400 W os resultados não foram satisfatórios para o mestranol e o 17 -etinilestradiol, indicando que uma derivatização eficiente para esses dois compostos requer mais tempo ou maior energia, e que isso provavelmente está relacionado a estrutura desses hormônios, pois ambos têm hidrogênios ativos que são protegidos por impedimento estérico o que pode dificultar a entrada de grupos substituintes nessas posições.

Na otimização proposta nesse presente trabalho, realizada de forma multivariada, os valores ótimos obtidos apontam justamente para a utilização de

tempos de derivatização um pouco maiores (5 min), numa potência de 840 W que é semelhante à utilizada por Zuo, Zhang e Lin (2007). Estas condições podem ter contribuído para o aumento da eficiência da derivatização até mesmo para os compostos protegidos por impedimento estérico, e com isso ter sido obtido resultados satisfatórios para esses compostos também, ao contrário do observado por Zuo, Zhang e Lin.

Esses mesmos autores compararam ainda a derivatização por micro-ondas com um protocolo onde a derivatização foi realizada em um “banho de areia” num tempo de 30 min a 80 °C. Não foram observadas diferenças significativas na eficiência da derivatização entre os dois protocolos, contudo a diminuição no tempo de derivatização quando utilizado o micro-ondas e consequentemente a redução no tempo de preparo de amostra foram bastante significativas do ponto de vista analítico. Essas observações feitas por Zuo, Zhang e Lin (2007) corroboram com os resultados obtidos nesse trabalho e mostrados na Figura 24.

5.2.3 Parâmetros de Mérito

Para assegurar a aplicabilidade e o alcance de um método analítico é necessário estabelecer parâmetros que atestem a qualidade das medidas instrumentais e a confiabilidade estatística dos resultados obtidos. Isto é feito por meio do estabelecimento de indicadores quantitativos conhecidos como parâmetros ou figuras de mérito numa etapa conhecida como validação. A estimativa dos parâmetros de mérito pode variar de acordo com a técnica analítica utilizada e com a aplicabilidade do método proposto (RIBEIRO *et al.*, 2008).

Não há métodos oficiais que abrangem a determinação da ampla quantidade de substâncias classificadas como contaminantes emergentes e também não há um guia ou protocolo de validação específico a ser seguido. Sendo assim, o critério de escolha de um protocolo ou guia de para validação do método nesses casos pode ser escolhido de acordo com a aplicabilidade do método.

O método proposto nesse trabalho tem por objetivo ser aplicado inicialmente em amostras de água tratada. Como no Brasil, quem dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano é o Ministério

da Saúde (MS, 2011), a validação do método proposto foi baseada em critérios descritos no Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (RE nº 899 de 29 de maio de 2003) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003).

Para validação foram avaliados os seguintes parâmetros de mérito: seletividade, precisão, linearidade, limite de detecção instrumental ($LD_{\text{Instrumental}}$), limite de quantificação instrumental ($LQ_{\text{Instrumental}}$) e exatidão.

A seletividade é a capacidade do método de medir o(s) composto(s) de interesse de forma inequívoca mesmo quando na presença de outros componentes tais como impurezas e demais componentes da matriz. Em métodos cromatográficos isso pode ser estabelecido demonstrando que cada pico cromatográfico é atribuído a um só componente (ANVISA, 2003). A seletividade foi verificada com base na avaliação dos cromatogramas e espectros de massas, onde foi possível relacionar os picos cromatográficos de cada composto-alvo com seus respectivos espectros de massas e assim diferenciá-los. O método proposto se mostrou seletivo para os compostos-alvo avaliados. A Figura 25a mostra um exemplo da identificação do pico da cafeína em um cromatograma obtido após injeção de uma solução padrão desse composto e na Figura 25b é mostrado o pico da cafeína em um cromatograma de uma amostra de água tratada. A identificação e comparação mostradas nas Figuras 25a e 25b para a cafeína foi também realizada para os demais compostos estudados.

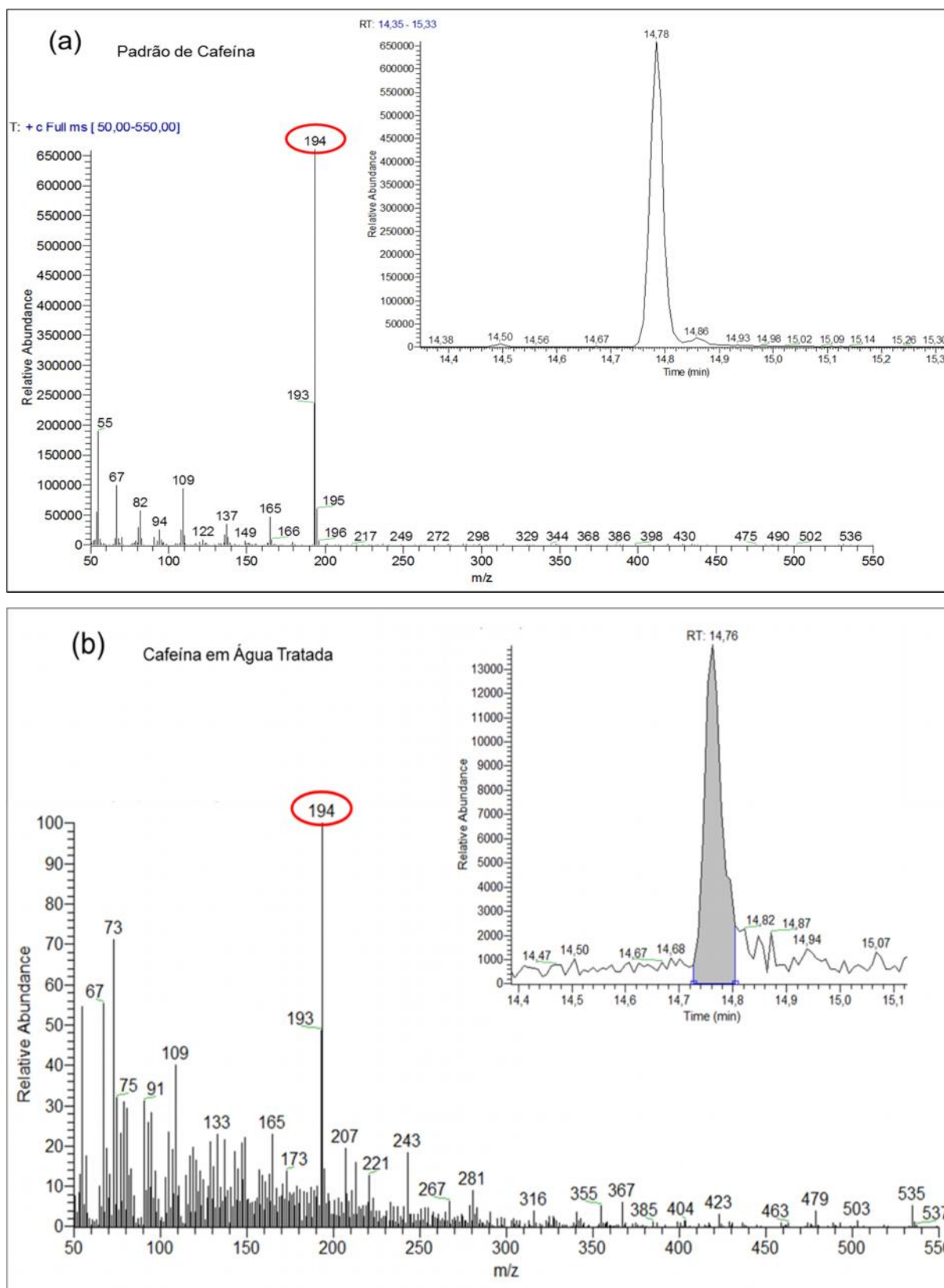


Figura 25 – (a) Pico cromatográfico da cafeína em solução padrão ($1000 \mu\text{g L}^{-1}$) e (b) Pico cromatográfico da cafeína em água tratada ($90 \mu\text{g L}^{-1}$) com os respectivos espectros de massas mostrando um sinal de maior intensidade referente ao $m/z = 194$, característico da desse composto.

A precisão refere-se ao grau de variação dos resultados de uma medição e é determinada com base no desvio padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*) de uma série de repetições de uma mesma medida. Para validação do método foram avaliadas a precisão instrumental, a repetibilidade e a precisão intermediária. A precisão instrumental foi avaliada a partir da injeção de solução padrão na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Foram realizadas 10 injeções consecutivas de uma mesma solução em um único dia. A repetibilidade, por outro lado foi avaliada a partir de soluções padrão preparadas em triplicata, em 3 concentrações diferentes (25, 50 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$). A preparação das soluções e injeção foi realizada em um mesmo dia. Já a precisão intermediária do método, foi avaliada com base na injeção de 3 soluções padrão, preparadas e injetadas em 2 dias diferentes, sendo avaliadas também nas concentrações de 25, 50 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Os resultados da validação do parâmetro precisão para o método proposto são apresentados na Tabela 13.

De acordo com a RE nº 899, o desvio padrão relativo não deve ser superior a 15 %. Analisando os resultados da Tabela 13, observa-se que os resultados de precisão foram satisfatórios para maioria dos compostos, considerando o limite de 15 %. Entretanto, numa análise multi-resíduos em concentrações da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1} , como é o caso da determinação de contaminantes emergentes, é possível que os valores de RSD possam ultrapassar em alguns casos esse limite, como observado para alguns compostos como paracetamol, 17 -etinilestradiol e progesterona. Os valores de RSD de modo geral foram menores para os maiores valores de concentração avaliados, como é o caso da cafeína, nonilfenol e octilfenol, cujo RSD na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ foi respectivamente, 14 %, 29 % e 11 % menor quando comparados aos valores de RSD para as mesmas substâncias na concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$. Somente para o Ibuprofeno e Ibuprofeno-D3 foram observados valores de RSD extremamente elevados, o que levaria a uma imprecisão na determinação quantitativa dessas duas substâncias pelo método proposto.

Tabela 13 – Dados da precisão instrumental, repetibilidade e precisão intermediária para o método proposto para determinação de CE por GC-MS.

Nº	Substâncias	RSD (%)						
		P _{instrumental} ^a	Repetibilidade ^b				P _{intermediária} ^c	
		100 µg L ⁻¹	25 µg L ⁻¹	50 µg L ⁻¹	100 µg L ⁻¹	25 µg L ⁻¹	50 µg L ⁻¹	100 µg L ⁻¹
1	Ibuprofeno-D ₃	5,65	110,0	124,0	49,0	94,4	104,7	58,5
2	Ibuprofeno	4,13	108,0	124,0	50,0	92,7	108,8	61,4
3	Paracetamol	3,58	18,0	48,0	5,0	13,7	24,4	9,0
4	Atrazina	3,13	8,0	7,0	4,0	7,5	5,9	6,8
5	Octilfenol	4,19	14,0	18,0	2,0	12,8	20,3	6,4
6	Cafeína	5,51	17,0	17,0	5,0	7,4	10,3	8,6
7	Nonilfenol	3,10	9,0	8,0	1,0	6,4	10,5	6,3
8	Metil-triclosan	6,25	13,0	9,0	6,0	11,7	6,0	3,8
9	Triclosan	7,25	12,0	18,0	6,0	7,8	11,9	6,7
10	Bisfenol A-D ₁₆	6,15	5,0	5,0	3,0	4,1	3,1	6,6
11	Bisfenol A	6,12	4,0	3,0	5,0	3,9	3,4	7,1
12	Estrona	7,68	7,0	6,0	6,0	7,2	6,4	6,4
13	17 -Estradiol-D ₃	8,12	3,0	3,0	4,0	5,3	2,3	5,9
14	17 -estradiol	7,83	5,0	5,0	5,0	5,3	5,1	8,5
15	Testosterona	15,50	8,0	9,0	2,0	17,1	6,2	5,8
16	17 -etinilestradiol	12,03	31,0	28,0	7,0	22,5	24,9	11,5
17	Progesterona	16,05	10,0	9,0	6,0	15,2	10,3	6,1
18	Estriol	10,02	5,0	1,0	9,0	12,6	1,7	10,0

^an = 10; ^bn = 3; ^cn = 2

Para avaliar a linearidade na faixa de trabalho escolhida, LD_{Instrumental} e o LQ_{Instrumental}, foram construídas curvas analíticas para as 18 substâncias listadas na Tabela 13. As condições experimentais para construção das curvas analíticas foram definidas com base nas otimizações tanto dos parâmetros cromatográficos quanto das condições de derivatização. A faixa de concentração escolhida foi de 1,0 a 100

$\mu\text{g L}^{-1}$ objetivando alcançar limites de detecção e quantificação compatíveis com as concentrações encontradas tanto em água tratada quanto em manancial em trabalhos descritos na literatura (SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010a; MONTAGNER; JARDIM, 2011; CALDAS *et al.*, 2013). As Curvas analíticas, com as respectivas regressões lineares e coeficientes de correlação para as 18 substâncias em estudo podem ser visualizadas na Figura A2.1 no ANEXO 2. Já os demais parâmetros obtidos a partir da curva analítica, tais como linearidade, limite de detecção e de quantificação são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Parâmetros da curva analítica

Substância	Faixa de Trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Linearidade (r^2)	m/z (quantificação)	LD _{Instrumental} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ _{Instrumental} ($\mu\text{g L}^{-1}$)
PARAC	1 - 100	0,9777	181	8,31	27,68
ATZ	1 - 100	0,9998	200	0,76	2,53
OCT	1 - 100	0,9692	179	9,80	32,66
CAF	1 - 100	0,9779	194	8,26	27,54
NON	1 - 100	0,9898	179	5,59	18,62
MTCS	1 - 100	0,9974	303	2,80	9,34
TCS	1 - 100	0,9896	200	5,65	18,85
BISA-D16	1 - 100	0,9992	368	1,54	5,14
BISA	1 - 100	0,9986	357	2,03	6,75
E1	1 - 100	0,9998	342	0,57	1,90
E2-D3	1 - 100	0,9985	419	2,16	7,22
E2	1 - 100	0,9992	416	1,51	5,05
TTN	1 - 100	0,9928	226	4,68	15,60
EE2	1 - 100	0,9957	425	3,62	12,08
PGN	1 - 100	0,9908	124	5,29	17,62
E3	1 - 100	0,9989	296	1,83	6,08

A linearidade foi avaliada a partir da correlação entre o sinal analítico dado pela razão (área de pico do padrão interno / área de pico do analito) e a concentração dos analitos na faixa de trabalho escolhida (1,0 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$). O ibuprofeno e ibuprofeno-D3 foram as únicas substâncias para as quais não foi possível obter uma correlação linear satisfatória entre o sinal analítico e as concentrações avaliadas para esses compostos (vide curva analítica, Figura A2.1, ANEXO 2). Elevados valores de RSD também foram observados na avaliação da repetibilidade do método e precisão intermediária, conforme mostrado na Tabela 13,

o que pode justificar a baixa linearidade observada na curva do ibuprofeno e ibuprofeno-D3. Devido a esses fatores não foi possível calcular o LD e LQ para esses dois compostos.

Os limites de detecção e quantificação instrumental apresentados na Tabela 14 foram calculados a partir da equação da reta obtida para cada composto após construção da curva analítica. A atrazina-D5 foi utilizada como padrão interno.

Os menores limites de quantificação instrumental foram obtidos para a estrona ($1,90 \mu\text{g L}^{-1}$) e atrazina ($2,53 \mu\text{g L}^{-1}$) e o maior limite de quantificação instrumental foi obtido para o octilfenol ($32,66 \mu\text{g L}^{-1}$).

A curva analítica cujos resultados estão resumidos na Tabela 14 foi obtida a partir da injeção no GC-MS de soluções padrão contendo todos os analitos nas concentrações (1, 5, 10, 25, 50, 75 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$). Sendo assim, os LD e LQ calculados são referentes à capacidade de detecção do instrumento para esses analitos considerando apenas como possível interferência à etapa de derivatização que é realizada antes da análise cromatográfica. Mas como a determinação de contaminantes emergentes em água requer uma etapa de concentração dos analitos presentes na matriz, os resultados obtidos possibilitam a detecção de concentrações muito menores desses contaminantes emergentes na amostra dependendo da eficiência de extração dos analitos da matriz e do fator de concentração estabelecido, que pode variar em função do método de extração escolhido e do volume de amostra empregado, entre outros (MONTAGNER; JARDIM, 2011).

Nesse trabalho foi utilizado SPE como método de extração, pois é possível trabalhar com maiores volumes de amostra, obtendo maiores fatores de enriquecimento, que é fundamental para determinação de contaminantes presentes a nível traço em matrizes aquosas. Foi empregado 1,0 litro de amostra, tanto nos ensaios de recuperação, realizados em água ultrapura quanto na determinação dos contaminantes emergentes em água tratada. Os analitos foram concentrados de 1000 até 4000 vezes após procedimento de extração.

A avaliação da eficiência do processo de extração e exatidão do método foi realizada a partir dos ensaios de recuperação. Dada à inexistência de métodos oficiais estabelecidos para determinação de contaminantes emergentes em água, a falta de material de referência e também da dificuldade em se obter uma matriz totalmente isenta dos analitos, os ensaios de recuperação foram realizados fortificando-se água-ultrapura com uma solução padrão mix dos compostos-alvo. As

fortificações foram feitas em dois níveis, 50 e 100 ng L⁻¹. A escolha dessas concentrações levou em conta os valores de LQ_{Instrumental} obtidos após construção da curva analítica e também um fator de concentração de 1000 vezes, partindo-se da extração de 1,0 L de amostra, eluição dos analitos da fase sorvente até a concentração deles em um extrato final de 1,0 mL que foi então analisado por GC-MS. Os resultados obtidos no ensaio de recuperação são mostrados na Figura 26.

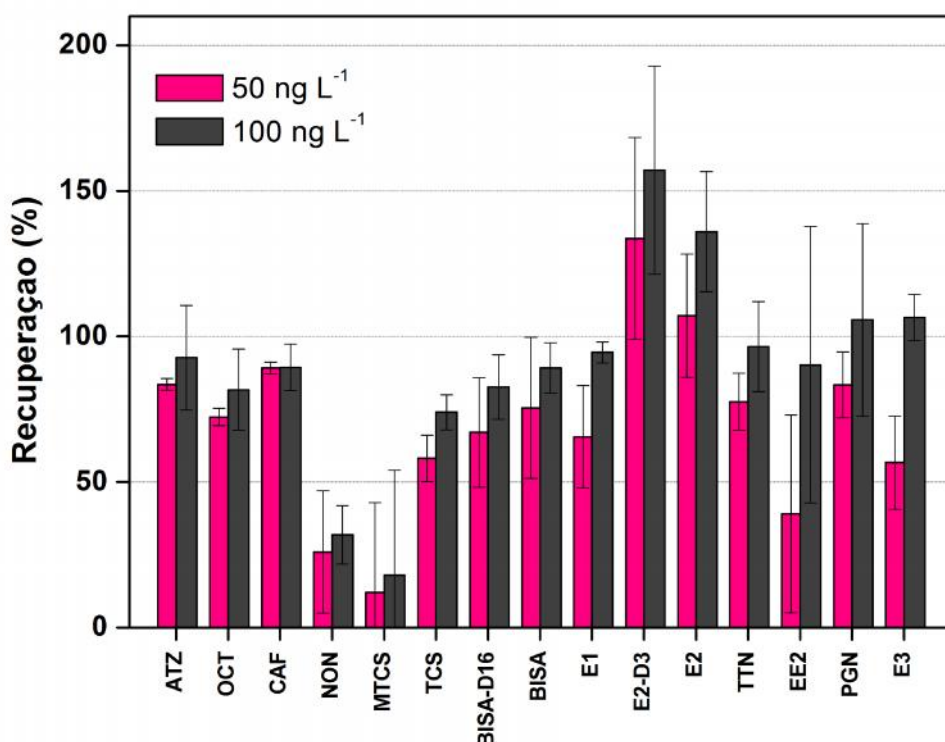


Figura 26 – Resultado do ensaio de recuperação aplicando o método otimizado na determinação de contaminantes emergentes em amostras de água ultrapura fortificada com substâncias padrão de contaminantes emergentes em dois níveis de concentração, 50 e 100 ng L⁻¹ (n=3).

De acordo com o critério de validação da ANVISA, a porcentagem de recuperação dos compostos-alvo deve ser próxima a 100 %, sendo admitidos valores menores desde que os resultados sejam precisos, ou seja, os valores de RSD não excedam 15 % (ANVISA, 2003). Dentre os compostos que apresentaram recuperação que atendem esse critério estão ATZ, OCT, CAF, NON, TCS, BISA-d16, BISA, E1, TTN, PGN e E3. Os demais compostos apresentaram porcentagem de recuperação inferior a 50 % e/ou desvio padrão relativo superior a 15 %.

Baixas porcentagens de recuperação podem ser observadas em métodos que visam à determinação simultânea de muitos compostos. Isso porque as diferenças nas características físico-químicas poderão influenciar de forma diferente a interação entre analito e fase sorvente, mesmo empregando cartuchos contendo fases que propõe minimizar esses problemas (KASPRZYK-HORDERN; DINSDALE; GUWY, 2008; MONTAGNER; JARDIM, 2011). O fato de os analitos estarem presentes em concentrações muito baixas também pode contribuir para diminuir a porcentagem de recuperação, pois diversos fatores podem levar a perdas dos analitos ao longo do protocolo analítico e consequentemente, a baixos índices de recuperação e aumento da imprecisão.

A recuperação observada para os compostos IBU, IBU-D3 e PARAC não foi satisfatória e por isso eles foram avaliados somente qualitativamente nas amostras não sendo possível realizar determinações quantitativamente desses compostos utilizando o método proposto.

Na Tabela 15 é apresentada uma comparação entre os LD e LQ obtidos no método proposto nesse trabalho e em outros métodos descritos na literatura empregando GC-MS como técnica instrumental.

Tabela 15 – Comparação entre limites de detecção e quantificação obtidos pelo método proposto e outros métodos descritos na literatura empregando CG-MS.

CE	Método Proposto (GC-MS)			Métodos Descritos na Literatura (GC-MS)				
	LD _{método} ^{**} (ng L ⁻¹)	LQ _{método} ^{**} (ng L ⁻¹)	Recup. (%)	LD _{método} ^{**}	LQ _{método} ^{**}	unid.	Recup. (%)	Referência
OCT	9,8	32,66	82	0,06	0,18	µg L ⁻¹	51	Sodré <i>et al</i> , 2010
CAF	8,26	27,54	89	0,03	0,1	µg L ⁻¹	83	Sodré <i>et al</i> , 2010
NON	5,59	18,62	32	0,11	0,36	µg L ⁻¹	70	Sodré <i>et al</i> , 2010
TCS	5,65	18,85	74	0,5	n.i	ng L ⁻¹	n.i	Guitart <i>et al</i> , 2010
BISA	2,03	6,75	89	0,49	1,63	ng L ⁻¹	96	Hibberd <i>et al</i> , 2009
E1	0,57	1,9	95	48	53	ng L ⁻¹	73	Pessoa <i>et al</i> , 2012
E2	1,51	5,05	136	64	67	ng L ⁻¹	52	Pessoa <i>et al</i> , 2012
TTN	4,68	15,60	97	n.i	18,1	ng L ⁻¹	n.i	Andrasi <i>et al</i> , 2011
EE2	3,62	12,08	90	100	250	ng L ⁻¹	99	Pessoa <i>et al</i> , 2012
PGN	5,29	17,62	106	n.i	88	ng L ⁻¹	n.i	Andrasi <i>et al</i> , 2011
E3	1,83	6,08	107	n.i	1,15	ng L ⁻¹	n.i	Andrasi <i>et al</i> , 2011

^{**} considerando um fator de concentração de 1000 vezes

5.2.4 Determinação de Contaminantes Emergentes em Águas de Abastecimento empregando GC-MS

O método otimizado e validado nesse trabalho foi empregado na investigação da presença de 15 contaminantes emergentes em amostras de água tratada coletadas em dois pontos amostrais na cidade de Curitiba. Um esquema contemplando todas as etapas do método proposto é apresentado na Figura 27.

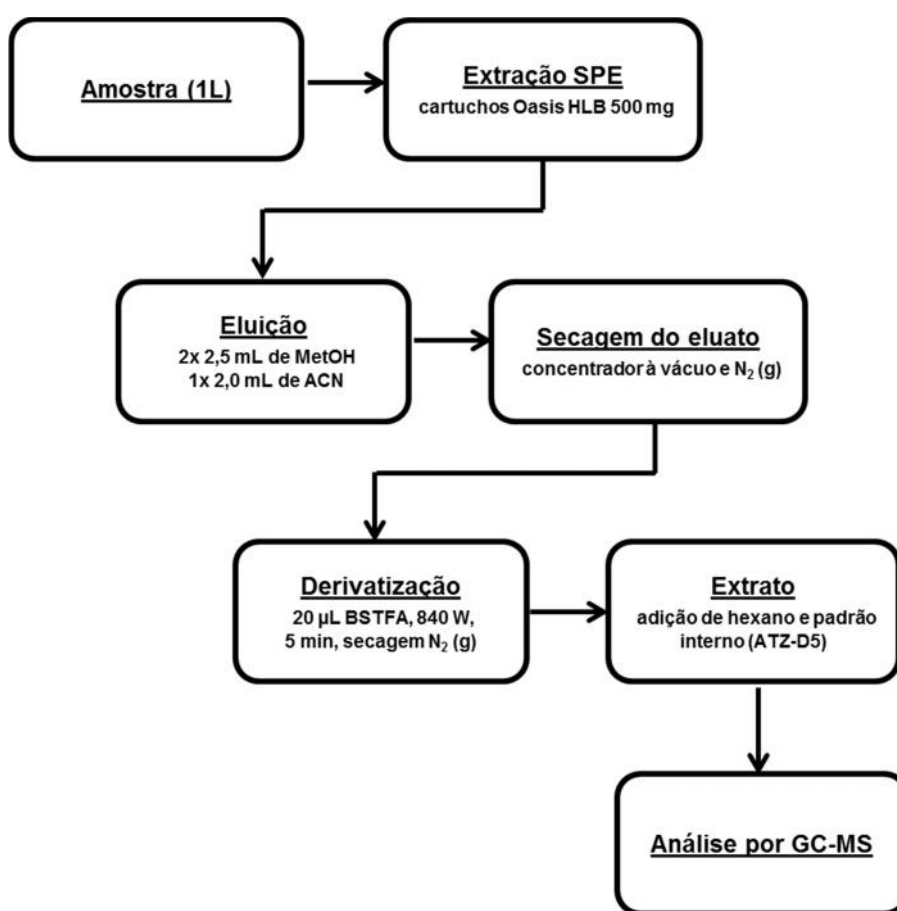


Figura 27 – Fluxograma com a descrição das etapas do protocolo analítico otimizado para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS.

No ponto amostral 1 (P1) localizado no Bairro Rebouças, foi coletada uma amostra de água tratada, enquanto no ponto amostral 2 (P2) localizado no Bairro Jardim das Américas foram coletadas três amostras. As substâncias, ibuprofeno, octilfenol, bisfenol A e cafeína foram detectadas.

Cafeína e bisfenol A foram detectadas nas 4 amostras coletadas, enquanto octilfenol foi detectado apenas na amostra coletada no ponto P1. Os dados da coleta e valores individuais de cada substância são apresentados na Tabela 16. Na primeira amostra coletada (A1-TRAT P1), os analitos foram extraídos por SPE, eluídos e depois solubilizados em um volume de 1000 μL , resultando em um fator de concentração de 1000 vezes. Nessa amostra foi possível detectar a presença de quatro substâncias no cromatograma obtido, porém em quantidades inferiores ao limite de quantificação. Por isso, não foi possível avaliar quantitativamente a concentração dessas substâncias na amostra. Diante desses resultados, nas demais amostras coletadas no P2, o fator de concentração foi elevado para 4000 vezes. O aumento no fator de concentração possibilitou a determinação da cafeína nessas amostras, conforme mostrado na Tabela 16.

Tabela 16 – Dados da coleta de água tratada em Curitiba e valores individuais dos CE determinados por GC-MS.

Amostras/ Volume	Tipo de Amostra	Ponto Amostral	Sistema/ Manancial	ETA	Substâncias Detectadas	Concentração na amostra (ng L ⁻¹)
A1-TRAT P1/ 1,0 L	Água tratada	Bairro Rebouças	Iraí/Represa do Iraí	Iraí	Ibuprofeno	n.a
					Octilfenol	<LQ
					Cafeína	<LQ
					Bisfenol A	<LQ
A2-TRAT P2/ 1,0 L	Água tratada	Bairro Jardim das Américas	Iguaçu/Canal Água Limpa	Iguaçu	Ibuprofeno	n.a
					Cafeína	9,16*
					Bisfenol A	<LQ
A3-TRAT P2/ 1,0 L	Água tratada	Bairro Jardim das Américas	Iguaçu/Canal Água Limpa	Iguaçu	Ibuprofeno	n.a
					Cafeína	22,53*
					Bisfenol A	<LQ
A4-TRAT P2/ 1,0 L	Água tratada	Bairro Jardim das Américas	Iguaçu/Canal Água Limpa	Iguaçu	Ibuprofeno	n.a
					Cafeína	7,49*
					Bisfenol A	<LQ

n.a: não avaliado

*fator de concentração: 4000 vezes

O BISA foi detectado em quantidades inferiores ao limite de quantificação do método e sendo assim não foi possível determinar a concentração desse composto

nessas amostras (Tabela 16). Devido aos altos valores de RSD observados para o IBU e conseqüentemente, a dificuldade em calcular o LQ, a avaliação desse composto em todas as amostras analisadas foi somente qualitativa.

Comparando os resultados das amostras coletadas em 2015 (Tabela 16) com os resultados obtidos para as amostras coletadas e analisadas no estudo do INCTAA em 2011/2012 (Tabela 10), observa-se que foi identificada a presença de um maior número de substâncias na água tratada coletada em Curitiba na última coleta em 2015. No estudo do INCTAA foram detectadas as presenças das substâncias cafeína e atrazina, enquanto nas amostras analisadas empregando o método proposto nesse trabalho foi identificada a presença de ibuprofeno, cafeína, octilfenol e bisfenol A. Contudo, quando comparado à frequência de detecção para as substâncias detectadas nas amostras coletadas em Curitiba durante o estudo do INCTAA e nas amostras que foram coletadas para aplicação do método proposto, em ambos, a cafeína se destaca com frequência de detecção de 100 %. Calculados os valores médios para cafeína na água tratada considerando somente as amostras onde a cafeína foi determinada acima do limite de quantificação observa-se que concentrações médias de cafeína determinadas nas amostras coletadas em 2015 ($13,06 \text{ ng L}^{-1}$) é duas vezes maior que a determinada em 2011 ($6,10 \text{ ng L}^{-1}$) e nove vezes menor que a determinada em 2012 ($116,30 \text{ ng L}^{-1}$).

Se observados as concentrações individuais de cafeína na água tratada considerando todas as amostras coletadas, tanto no estudo do INCTAA, quanto àquelas coletadas para aplicação do método proposto é possível observar que há variações nas concentrações determinadas. Essas variações são observadas para as diferentes campanhas amostrais, contudo são observadas também para aquelas amostras coletadas em uma mesma campanha ou em um mesmo sistema de abastecimento. Na Figura 28 são mostrados os valores de cafeína na água tratada para todas as amostras coletadas em 2011, 2012 e 2015.

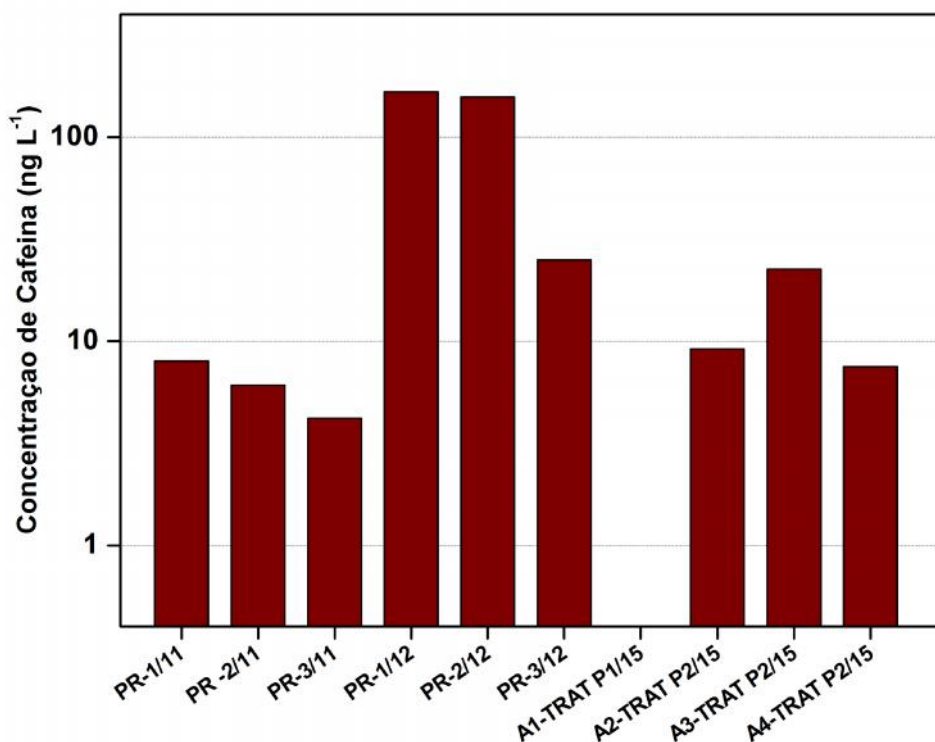


Figura 28 – Concentração de cafeína em água tratada coletadas em Curitiba em campanhas realizadas em 2011, 2012 e 2015.

Essa variabilidade na concentração de cafeína em água tratada também foi observada em outros trabalhos (BOLEDA; GALCERAN; VENTURA, 2013; CANELA *et al.*, 2014) e pode ocorrer em função de diversos fatores como, variação no volume de precipitação no período de amostragem, variabilidade da carga de poluentes que chegam às ETE, eficiência do tratamento empregado na ETA, variações devido ao protocolo analítico empregado entre outras. Contudo, para avaliar a influência desses fatores de forma mais realística seria necessário uma coleta mais sistemática e um número mais representativo de amostras.

6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados gerados no estudo do INCTAA no trabalho conjunto dos pesquisadores participantes do estudo de determinação de contaminantes emergentes em águas destinadas ao abastecimento público no Brasil evidenciaram a presença de alguns desses contaminantes nas amostras coletadas nas diversas capitais brasileiras. Nas capitais, Curitiba, Florianópolis, Porto Alegre e Campo Grande, das 16 substâncias investigadas no estudo, cafeína, triclosan e atrazina foram encontradas. O triclosan foi encontrado em apenas uma das amostras de água tratada coletada em Porto Alegre, enquanto a cafeína e atrazina foram detectadas em 100 % das amostras coletadas nessas capitais, incluindo as duas amostras de água superficial coletadas no lago Guaíba em Porto Alegre.

Em relação aos resultados referem à etapa de otimização do método cromatográfico para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS foi possível promover uma separação cromatográfica satisfatória para as substâncias investigadas bem como identificar os respectivos íons de quantificação e confirmação, sendo essa a primeira etapa para o desenvolvimento e otimização do método cromatográfico de análise. Foi possível também constatar que a elaboração dos planejamentos fatoriais foi importante no processo de otimização do método cromatográfico e dos métodos de derivatização, possibilitando a observação e entendimento dos efeitos de interação entre as variáveis avaliadas, além de possibilitar a obtenção da melhor resposta com um número reduzido de experimentos.

O método proposto se mostrou seletivo para as compostos-alvo, além de apresentar boa precisão e linearidade para a maioria das substâncias de interesse, com exceção do ibuprofeno e ibuprofeno-D3. Os limites de detecção e de quantificação instrumentais obtidos estão dentro da faixa de concentração normalmente descritas na literatura para essas substâncias em matrizes aquosas considerando um fator de concentração de no mínimo 1000 vezes durante a etapa de preparo de amostra. Dos dezoito compostos avaliados, quinze apresentaram resultados satisfatórios frente aos ensaios de recuperação.

O método proposto para determinação de contaminantes emergentes por GC-MS se mostrou adequado para ser empregado na determinação de

contaminantes emergentes em água tratada, tendo potencial para ser aplicado também para análise de outras matrizes aquosas, como águas superficiais.

O método proposto foi aplicado na análise de amostras de água tratada coletadas na cidade de Curitiba onde foram detectados ibuprofeno, cafeína, bisfenol A e octilfenol. Os três primeiros compostos foram detectados em todas as amostras analisadas. Contudo, ibuprofeno e bisfenol A estavam presentes em concentrações abaixo dos limites de quantificação do método. Em apenas uma das amostras a cafeína estava presente abaixo do limite de quantificação. Nas demais, foi encontrada nas seguintes concentrações: 7,49, 9,16 e 22,53 ng L⁻¹. O octilfenol foi detectado em apenas uma das amostras também em concentração abaixo do limite de quantificação do método.

Esses resultados mostram que a presença de contaminantes emergentes tanto nos mananciais utilizados para o abastecimento público quanto na água tratada é uma realidade no Brasil e evidenciam deficiências no saneamento e nos processos de tratamento de água empregados nas ETA para remoção desses contaminantes. A ampla presença de cafeína nas amostras de água tratada, por se tratar de um composto de origem antrópica, é um indício da contaminação do manancial principalmente por esgoto doméstico. Embora não legislados, o conhecimento acerca do comportamento e concentrações dessas substâncias em água é importante, pois ainda não se conhece as doses seguras de ingestão para inúmeros destes compostos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACC. American Chemistry Council. Polycarbonate/BPA Global Group. Disponível em: <<http://www.bisphenol-a.org/about/index.html>>. Acesso em: 12/03/2012.

ÁGUAS GUARIROBA. Empresa de Saneamento de Campo Grande. Disponível em: <<http://www.aguasguariroba.com.br/>>. Acesso em: 01/07/2013.

ALMEIDA, F. V.; CENTENO, A. J.; BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. Substâncias tóxicas persistentes (STP) no Brasil. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1976-1985, 2007.

ALVAREZ, D.; PERKINS, S.; NILSEN, E.; MORACE, J. Spatial and temporal trends in occurrence of emerging and legacy contaminants in the Lower Columbia River 2008-2010. **Science of the Total Environment**, v. 484, n. 1, p. 322-330, 2014.

ANA. Agência Nacional de Águas. Atlas Brasil – Abastecimento Urbano de Água. Disponível em: <<http://atlas.ana.gov.br/Atlas/forms/Download.aspx>>. Acesso em: 18/02/2010.

ANDREWS, W. J.; MASONER, J. R.; COZZARELLI, I. M. Emerging contaminants at a closed and an operating landfill in Oklahoma. **Ground Water Monitoring and Remediation**, v. 32, n. 1, p. 120-130, 2012.

ANDRÁSI, N.; HELENKÁR, A.; VASANITS-ZSIGRAI, A.; ZÁRAY, G.; MOLNÁR-PERL, I. The role of the acquisition methods in the analysis of natural and synthetic steroids and cholic acids by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 45, p. 8264-8272, 2011a.

ANDRÁSI, N.; HELENKÁR, A.; ZÁRAY, G.; VASANITS, A.; MOLNÁR-PERL, I. Derivatization and fragmentation pattern analysis of natural and synthetic steroids, as their trimethylsilyl (oxime) ether derivatives by gas chromatography mass spectrometry: Analysis of dissolved steroids in wastewater samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 14, p. 1878-1890, 2011b.

ANDREOLI, C. V.; DALARMI, O.; LARA, A. I.; ANDREOLI, F. Limites ao desenvolvimento da Região Metropolitana de Curitiba impostos pela escassez de água. **Revista Técnica da Sanepar (SANARE)**, v. 12, 1999.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 de junho de 2003.

ATSRD. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Public Health Statement for Atrazine (2003). Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp153-c1-b.pdf>>. Acesso em: 22/03/2014.

AZEVEDO, D. D. A.; LACORTE, S.; VIANA, P.; BARCELÓ, D. Occurrence of Nonylphenol and Bisphenol-A in Surface Waters from Portugal. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, n. 4, p. 532-537, 2001.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos**. 4ª edição. Porto Alegre: Bookman, 2010. 414 p.

BI, E.; LIU, Y.; HE, J.; WANG, Z.; LIU, F. Screening of emerging volatile organic contaminants in shallow groundwater in East China. **Ground Water Monitoring and Remediation**, v. 32, n. 1, p. 53-58, 2012.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: Efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007.

BOLEDA, M. R.; GALCERAN, M. T.; VENTURA, F. Validation and uncertainty estimation of a multiresidue method for pharmaceuticals in surface and treated waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, n. 1286, 146-158, 2013.

BOWDEN, J. A.; COLOSI, D. M.; MORA-MONTERO, D. C.; GARRETT, T. J.; YOST, R. A. Evaluation of Derivatization Strategies for the Comprehensive Analysis of Endocrine Disrupting Compounds using GC/MS. **Journal of Chromatographic Science**, v. 47, n. 1, p. 44-51, 2009.

BUENO, M. J. M.; GOMEZ, M. J.; HERRERA, S.; HERNANDO, M. D.; AGÜERA, A.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: Two years pilot survey monitoring. **Environmental Pollution**, n. 164, p. 267-273, 2012.

BUERGE, I. J.; POIGER, T.; MÜLLER, M. D.; BUSER, H.R. Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 691-700, 2003.

BUTH, J. M.; GRANDBOIS, M.; VIKESLAND, P. J.; MCNEILL, K.; ARNOLD, W. A. Aquatic photochemistry of chlorinated triclosan derivatives: Potential source of polychlorodibenzo-p-dioxins. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 12, p. 2555-2563, 2009.

CALDAS, S. S.; BOLZAN, C. M.; GUILHERME, J. R.; SILVEIRA, M. A. K.; ESCARRONE, A. L. V.; PRIMEL, E. G. Determination of pharmaceuticals, personal care products, and pesticides in surface and treated waters: Method development and survey. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 8, p. 5855-5863, 2013.

CANELA, M. C.; JARDIM, W. F.; SODRÉ, F. F.; GRASSI, M. T. **Caféina em águas de abastecimento público no Brasil**. São Carlos: Editora Cubo, 2014. 96 p.

CASAN. Companhia Catarinense de Água e Saneamento. Disponível em: <<http://www.casan.com.br/>>. Acesso em: 20/03/2012.

CASTIGLIONI, S.; ZUCCATO, E.; CHIABRANDO, C.; FANELLI, R.; BAGNATI, R. Mass spectrometric analysis of illicit drugs in wastewater and surface water. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 27, n. 4, p. 378-394, 2008.

CHEN, C. E.; ZHANG, H.; JONES, K. C. A novel passive water sampler for in situ sampling of antibiotics. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, n. 6, p. 1523-1530, 2012.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P., S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora Unicamp, 2006. 452 p.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para seu enquadramento. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 de março de 2005.

CONLEY, J. M.; SYMES, S. J.; SCHORR, M. S.; RICHARDS, S. M. Spatial and temporal analysis of pharmaceutical concentrations in the upper Tennessee River basin. **Chemosphere**, v. 73, n. 8, p. 1178-1187, 2008.

COOGAN, M. A.; EDZIYIE, R. E.; LA POINT, T. W.; VENABLES, B. J. Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream. **Chemosphere**, v. 67, n. 10, p. 1911-1918, 2007.

COUSINS, I. T.; STAPLES, C. A.; KLEKA, G. M.; MACKAY, D. A multimedia assessment of the environmental fate of bisphenol A. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 8, n. 5, p. 1107-1135, 2002.

DA SILVA, C. G. A.; COLLINS, C. H. Applications of high performance liquid chromatography for the study of emerging organic pollutants. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.

DAMS, R.; HUESTIS, M. A.; LAMBERT, W. E.; MURPHY, C. M. Matrix effect in bio-analysis of illicit drugs with LC-MS/MS: influence of ionization type, sample preparation, and biofluid. **Journal American Society Mass Spectrometry**, v. 14, n. 11, p. 1290-1294, 2003.

DANESHVAR, A.; ABOULFADL, K.; VIGLINO, L.; BROSEUS, R.; SAUVÉ, S.; MADOUX-HUMERY, A. S.; WEYHENMEYER, G. A.; PRÉVOST, M. Evaluating pharmaceuticals and caffeine as indicators of fecal contamination in drinking water sources of the Greater Montreal region. **Chemosphere**, v. 88, n. 1, p. 131-139, 2012.

DANG, Z.; TRAAS, T.; VERMEIRE, T. Evaluation of the fish short term reproduction assay for detecting endocrine disrupters. **Chemosphere**, v. 85, n. 10, p. 1592-1603, 2011.

DAVIES, S.; LEE, T.; RAMSEY, J.; DARGAN, P. I.; WOOD, D. M. Risk of caffeine toxicity associated with the use of legal highs (novel psychoactive substances). **European Journal of Clinical Pharmacology**, n. 68, p. 435-439, 2012.

DE ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T. R.; ANTUNES, P. M.; DOS SANTOS, M. A. P. F.; DE CAMARGO, P. B.; ABAKERLI, R. B. Spatial-temporal diagnostic of herbicide occurrence in surface waters and sediments of Corumbataí River and main affluents. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1119-1127, 2007.

DE ÁVILA, L. G.; LEITE, S. B.; DICK, D. P.; POHLMANN, A. R. Formulações de atrazina em xerogéis: síntese e caracterização. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1727-1733, 2009.

DEBLONDE, T.; COSSU-LEGUILLE, C.; HARTEMANN, P. Emerging pollutants in wastewater: a review of the literature. **International Journal Hygiene Environmental Health**, v. 214, n. 6, p. 442-448, 2011.

DMAE. Departamento Municipal de Água e Esgoto. Disponível em: <<http://www2.portoalegre.rs.gov.br/dmae/>>. Acesso em: 21/03/2012.

ECOS. Environmental Council of States. Ecos Green Report - State experience with emerging contaminants: recommendations for federal action, 2010. Disponível em: <http://www.ecos.org/section/green_reports/>. Acesso em: 14/07/2014.

EMA. European Medicine Agency. Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use, 2006. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC50003978.pdf>. Acesso em: 31/08/2015.

EUROSTAT. Organização Estatística da União Européia. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/eurostat/tgm/table.do?tab=table&plugin=1&language=en&pcode=ten00011>>. Acesso em: 11/07/2013.

FATTA-KASSINOS, D.; MERIC, S.; NIKOLAOU, A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: Current state of knowledge and future research. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, n. 1, p. 251-275, 2011.

FDA. Food and Drug Administration. Triclosan: What Consumers Should Know. Disponível em: <<http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm205999.htm>>. Acesso em: 15/03/2013.

FONTANA, A. R.; WUILLOUD, R. G.; MARTÍNEZ, L. D.; ALTAMIRANO, J. C. Simple approach based on ultrasound-assisted emulsification-microextraction for determination of polibrominated flame retardants in water samples by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 1, p. 147-153, 2009.

FONTENELE, E. G. P.; MANOEL, R. A. M.; QUIDUTE, A. R. P.; MONTENEGRO JR, R. M. Environmental contaminants and endocrine disruptors. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 54, n. 1, p.6-16, 2010.

FROEHNER, S.; SOUZA, D. B.; MACHADO, K. S.; ROSA, E. C. Tracking anthropogenic inputs in Barigui River, Brazil using biomarkers. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 210, n. 1-4, p. 33-41, 2010.

GALLART-AYALA, H.; MOYANO, E.; GALCERAN, M. T. Recent advances in mass spectrometry analysis of phenolic endocrine disruptors and related compounds. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 29, n. 5, p. 776-805, 2010.

GAVRILESCU, M.; DEMNEROVA, K.; AAMAND, J.; AGATHOS, S.; FAVA, F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 147-156, 2015.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 695-706, 2007.

GOMES, R. L.; AVCIOGLU, E.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J.N. Steroid-estrogen determination in sediment and sewage sludge: A critique of sample preparation and chromatographic/mass spectrometry considerations, incorporating a case study in method development. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10-11, p. 737-744, 2004.

GÓMEZ, M. J.; MEZCUA, M.; MARTINEZ, M. J.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; AGÜERA, A. A new method for monitoring oestrogens, N-octylphenol, and bisphenol A in wastewater treatment plants by solid-phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 86, n. 1-2, p. 3-13, 2006.

GONG, J.; RAN, Y.; CHEN, D.; YANG, Y.; MA, X. Occurrence and environmental risk of endocrine-disrupting chemicals in surface waters of the Pearl River, South China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 156, n. 1-4, p. 199-210, 2009.

GUITART, C.; READMAN, J. W. Critical evaluation of the determination of pharmaceuticals, personal care products, phenolic endocrine disruptors and faecal steroids by GC/MS and PTV-GC/MS in environmental waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 658, n. 1, p. 32-40, 2010.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2012. 898p.

HENNION, M. C. Solid-phase extraction: Method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 856, n. 1-2, p. 3-54, 1999.

HIBBERD, A.; MASKAOUI, K.; ZHANG, Z.; ZHOU, J.L. An improved method for the simultaneous analysis of phenolic and steroidal estrogens in water and sediment. **Talanta**, v. 77, n. 4, p. 1315-1321, 2009.

HUANG, B.; PAN, X-J.; LIU, J-L.; FANG, K.; WANG, Y, GAO, J-P. Hydroxyl group derivatization of steroid environmental endocrine disrupting chemicals. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 37, n. 11, p. 1651-1656, 2009.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Produtos agrotóxicos e afins comercializados no Brasil - uma abordagem ambiental (2012). Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/produtos_agrotoxicos_comercializados_brasil_2009.pdf>. Acesso em: 22/03/2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Atlas de Saneamento 2011. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/atlas_saneamento/default_zip.shtm>. Acesso em: 15/07/2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE Cidades. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 20/03/2012.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>>. Acesso em: 24/08/2015.

IKONOMOU, M. G.; CAI, S.S.; FERNANDEZ, M. P.; BLAIR, J. D.; FISCHER, M. Ultra-trace analysis of multiple endocrine-disrupting chemicals in municipal and bleached kraft mill effluents using gas chromatography-high-resolution mass spectrometry. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 27, n. 2, p. 243-251, 2008.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em: 01/08/2015.

IPPUC. Instituto de Pesquisa e Planejamento Urbano de Curitiba. Disponível em: <http://www.ippuc.org.br/default.php>>. Acesso em: 17/02/2012.

ISHIBASHI, H.; MATSUMURA, N.; HIRANO, M.; MATSUOKA, M.; SHIRATSUCHI, H.; ISHIBASHI, Y.; TAKAO, Y.; ARIZONO, K. Effects of triclosan on the early life stages and

reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. **Aquatic Toxicology**, v. 67, n. 2, p. 167-179, 2004.

ISHIKAWA, S. Possible roles of B1 cells and environmental estrogens (endocrine disruptors) in the development of autoimmune diseases. **Allergology International**, v. 54, n. 4, p. 499-505, 2005.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. **Water Research**, v. 42, n. 13, p. 3498-3518, 2008.

KATZ, D. R.; CANTWELL, M. G.; SULLIVAN, J. C.; PERRON, M. M.; BURGESS, R. M.; HO, K. T.; CHARPENTIER, M. A. Factors regulating the accumulation and spatial distribution of the emerging contaminant triclosan in the sediments of an urbanized estuary: Greenwich Bay, Rhode Island, USA. **Science of the Total Environment**, v. 443, n. 123-133, p. 2013.

KNAPP, D. R. **Handbook of Analytical Derivatization Reactions**. New York: John Wiley & Sons, 1979. 741p.

KNEE, K. L.; GOSSETT, R.; BOEHM, A. B.; PAYTAN, A. Caffeine and agricultural pesticide concentrations in surface water and groundwater on the north shore of Kauai (Hawaii, USA). **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, n. 8, p. 1376-1382, 2010.

KUCH, H. M.; BALLSCHMITER, K. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range. **Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 15, p. 3201-3206, 2001.

LAPWORTH, D. J.; BARAN, N.; STUART, M. E.; WARD, R. S. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. **Environmental Pollution**, v. 163, n. 287-303, 2012.

LARA-MARTIN, P. A.; GONZALEZ-MAZO, E.; PETROVIC, M.; BARCELO, D.; BROWNAWELL, B. J. Occurrence, distribution and partitioning of nonionic surfactants and pharmaceuticals in the urbanized Long Island Sound Estuary (NY). **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, n. 2, p. 710-719, 2014.

LARSSON, D. G. J.; ADOLFSSON-ERICI, M.; PARKKONEN, J.; PETTERSSON, M.; BERG, A. H.; OLSSON, P. E.; FÖRLIN, L. Ethinyloestradiol - An undesired fish contraceptive? **Aquatic Toxicology**, v. 45, n. 2-3, p. 91-97, 1999.

LEI, B.; HUANG, S.; ZHOU, Y.; WANG, D.; WANG, Z. Levels of six estrogens in water and sediment from three rivers in Tianjin area, China. **Chemosphere**, v. 76, n. 1, p. 36-42, 2009.

LEUNG, H. W.; JIN, L.; WEI, S.; TSUI, M. M. P.; ZHOU, B.; JIAO, L.; CHEUNG, P. C.; CHUN, Y. K.; MURPHY, M. B.; LAM, P. K. S. Pharmaceuticals in tap water: Human health risk assessment and proposed monitoring framework in China. **Environmental Health Perspectives**, v. 121, n. 7, p. 839-846, 2013.

LIMA GOMES, P. C. F.; BARNES, B. B.; SANTOS-NETO, T. J.; LANCAS, F. M.; SNOW, N. H. Determination of steroids, caffeine and methylparaben in water using solid phase microextraction-comprehensive two dimensional gas chromatography-time of flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, n. 1299, p. 126-130, 2013.

LOCATELLI, M. A. F.; SODRÉ, F. F.; JARDIM, W. F. Determination of antibiotics in brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 3, p. 385-393, 2011.

LOZANO, N.; RICE, C. P.; RAMIREZ, M.; TORRENTS, A. Fate of triclosan in agricultural soils after biosolid applications. **Chemosphere**, v. 78, n. 6, p. 760-766, 2010.

MENDES, M. Saneamento básico: um crime social. **Revista CREA-PR**. n.67, p. 26-29, 2011.

MENDOZA-RODRÍGUEZ, C. A.; GARCÍA-GUZMÁN, M.; BARANDA-AVILA, N.; MORIMOTO, S.; PERROT-APPLANAT, M.; CERBÓN, M. Administration of bisphenol A to dams during perinatal period modifies molecular and morphological reproductive parameters of the offspring. **Reproductive Toxicology**, v. 31, n. 2, p. 177-183, 2011.

MNIF, W.; HASSINE, A. I. H.; BOUAZIZ, A.; BARTEGI, A.; THOMAS, O.; ROIG, B. Effect of endocrine disruptor pesticides: A review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 6, p. 2265-2303, 2011.

MOL, H. G. J.; SUNARTO, S.; STEIJGER, O. M. Determination of endocrine disruptors in water after derivatization with N-methyl-N-(tert.-butyldimethyltrifluoroacetamide) using gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 879, n. 1, p. 97-112, 2000.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F.; VON DER OHE, P. C.; UMBUZEIRO, G. A. Occurrence and potential risk of triclosan in freshwaters of Sao Paulo, Brazil--the need for regulatory actions. **Environmetal Science and Pollution Research**, v. 21, n. 3, p. 1850-1858, 2014a.

MONTAGNER, C. C.; UMBUZEIRO, G. A.; PASQUINI, C.; JARDIM, W. F. Caffeine as an indicator of estrogenic activity in source waters. **Environmental Science Processes & Impact**, v. 16, n. 8, p. 1866-1869, 2014b.

MS. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de otabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 de dezembro de 2011.

NAM, S. H.; SEO, Y. M.; KIM, M. G. Bisphenol A migration from polycarbonate baby bottle with repeated use. **Chemosphere**, v. 79, n. 9, p. 949-952, 2010.

NICOLODI, J. L., E. E.; FARINA, L. Dinâmica e ressuspensão por ondas no Lago Guaíba (RS, Brasil) e implicações nos locais de captação de água para abastecimento humano. **Pesquisas em Geociências**, v. 37, n. 1, p. 25-39, 2010.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: Propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 772-776, 2002.

NYCDEP. New York City Department of Environmental Protection. Occurrence of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) in Source Water of the New York City Water Supply (2010). Disponível em: http://www.nyc.gov/html/dep/pdf/quality/nyc_dep_2009_ppcp_report.pdf. Acesso em: 20/07/2015.

OLIVEIRA, G. G.; JANEGITZ, B. C.; BATISTÃO, M. B.; SALAMI, F. H. ;FATIBELLO-FILHO, O.; LEITE, O. D. Determination of paracetamol using a flow injection analysis with multicommutation and chemiluminescence detection. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1755-1759, 2009.

ORT, C.; LAWRENCE, M. G.; RIECKERMANN, J.; JOSS, A. Sampling for pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and illicit drugs in wastewater systems: Are your conclusions valid? A critical review. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 16, p. 6024-6035, 2010.

ORVOS, D. R.; VERSTEEG, D. J.; INAUEN, J.; CAPDEVIELLE, M.; ROTHENSTEIN, A.; CUNNINGHAM, V. Aquatic toxicity of triclosan. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 7, p. 1338-1349, 2002.

PADRÓN, M. E. T.; AFONSO-OLIVARES, C.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J. Microextraction techniques coupled to liquid chromatography with mass spectrometry for the determination of organic micropollutants in environmental water samples. **Molecules**, v. 19, n. 7, p. 10320-10349, 2014.

PAL, A.; GIN, K. Y. H.; LIN, A. Y. C.; REINHARD, M. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 24, p. 6062-6069, 2010.

PARKER, D. S. Introduction of new process technology into the wastewater treatment sector. **Water Environment Research**, v. 83, n. 6, p. 483-497, 2011.

PEDROUZO, M.; BORRULL, F. MARCÉ, R. M.; POCURULL, E. Analytical methods for personal-care products in environmental waters. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 5, p. 749-760, 2011.

PEIXOTO, M. F. S. P.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J.B.; TORNISIELO, V. L.; PEIXOTO, C. P.; SAMPAIO, L. S. V.; SAMPAIO, H. S. V. Remobilização de resíduos ligados de 14C-atrazina em ácidos fúlvicos. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 340-346, 2005.

PENTER, C.; PEDÓ, E.; FABIÁN, C.; HARTZ, S. Inventário Rápido da Fauna de Mamíferos do Morro Santana, Porto Alegre, RS. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 1, p. 119, 2008.

PESSOA, G. P.; SANTOS, A. B.; SOUZA, N.C.; ALVES, J. A. C. Desenvolvimento de Metodologia para Avaliar a Remoção de Estrogênios em Estações de Tratamento de Esgotos. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 968-973, 2012.

POMATI, F.; CASTIGLIONI, S.; ZUCCATO, E.; FANELLI, R.; VIGETTI, D.; ROSSETTI, C.; CALAMARI, D. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells. **Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 7, p. 2442-2447, 2006.

RAIMUNDO, C. C. M. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia**. 108f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2007.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. MELO, L. F. C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, C.; PARDAL, M. A.; MARTINHO, F.; MARGALHO, R.; TIRITAN, M. E.; ROCHA, E.; ROCHA, M. J. Distribution of endocrine disruptors in the Mondego River estuary, Portugal. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 149, n. 1-4, p. 183-193, 2009.

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de Validação: Uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008.

RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; CONCHA-GRAÑA, E.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, v. 86, n. 10, p. 1040-1049, 2012.

SANCHEZ, W.; SREMSKI, W.; PICCINI, B.; PALLUEL, O.; MAILLOT-MARECHAL, E.; BETOULLE, S.; JAFFAL, A.; AIT-AISSA, S.; BRION, F.; THYBAUD, E.; HINFRAY, N.; PORCHER, J. M. Adverse effects in wild fish living downstream from pharmaceutical manufacture discharges. **Environment International**, v. 37, n. 8, p. 1342-1348, 2011.

SMHSA. Secretaria Municipal de Habitação e Saneamento Ambiental de Florianópolis. Disponível em:

<<http://www.pmf.sc.gov.br/entidades/habitacao/?cms=plano+integrado+de+saneamento+basic>>. Acesso em: 19/02/2011.

SNIS. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Diagnósticos dos serviços de água e esgoto. Disponível em:

<<http://www.snis.gov.br/PaginaCarrega.php?EWRErterterTERTer=6>>. Acesso em: 14/07/2012.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: A sewage-to-tap issue. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 206, n. 1-4, p. 57-67, 2010a.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Sistema limpo em linha para extração em fase sólida de contaminantes emergentes em águas naturais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 216-219, 2010c.

SODRÉ, F. F.; MONTAGNER, C. C.; LOCATELLI, M. A.; JARDIM, W. F. Ocorrência de Interferentes Endócrinos e Produtos Farmacêuticos em Águas Superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 2, 187-196, 2007.

SODRÉ, F. F.; PESCARA, I. C.; MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 92-98, 2010b.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª edição. São Paulo: Editora Thomson, 2006. 1124 p.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 8ª edição, v. 2. Rio de Janeiro: LTC, 2006. 542 p.

STACKELBERG, P. E.; GIBBS, J.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; LIPPINCOTT, R. L. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal

of pharmaceuticals and other organic compounds. **Science of the Total Environment**, v. 377, n. 2-3, p. 255-272, 2007.

STUART, M.; LAPWORTH, D.; CRANE, E.; HART, A. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. **Science of the Total Environment**, n. 416, p. 1-21, 2012.

STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R. D.; SILVANA VIANNA, R.; BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 135-141, 1999.

SUMPTER, J. P. Endocrine disrupters in the aquatic environment: An overview. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 33, n. 1, p. 9-16, 2005.

SUMPTER, J. P.; JOHNSON, A. C. Lessons from endocrine disruption and their application to other issues concerning trace organics in the aquatic environment. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 12, p. 4321-4332, 2005.

TAN, B. L. L.; HAWKER, D. W.; MÜLLER, J. F.; TREMBLAY, L. A.; CHAPMAN, H. F. Stir bar sorptive extraction and trace analysis of selected endocrine disruptors in water, biosolids and sludge samples by thermal desorption with gas chromatography-mass spectrometry. **Water Research**, v. 42, n. 1-2, p. 404-412, 2008.

THOMAS, K. V.; ARAÚJO DA SILVA, F. M.; LANGFORD, K. H.; DE SOUZA, A. D. L.; NIZZETO, L.; WAICHMAN, A. V. Screening for selected human pharmaceuticals and cocaine in the urban streams of Manaus, Amazonas, Brazil. **Journal of the American Water Resources Association**, v. 50, n. 2, p. 302-308, 2014.

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Recursos Hídricos no Século XXI**. 1ª edição. São Paulo: Oficina de Textos, 2011. 328 p.

UE. União Européia. Directive on environmental quality standards (2008/105/EC). Disponível em: <http://ec.europa.eu/environment/water/water-dangersub/pri_substances.htm>. Acesso em: 31/08/2013.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Contaminant candidate List 3 (CCL3). Disponível em: <<http://www2.epa.gov/ccl/contaminant-candidate-list-3-ccl-3>>. Acesso em: 10/05/2015.

USEPA. United State Environmental Protection Agency. Contaminants of emerging concern. Disponível em: <<http://water.epa.gov/scitech/cec/>>. Acesso em: 14/07/2014.

USGS. United State Geological Survey. Emerging contaminants in the environment. Disponível em: <<http://toxics.usgs.gov/regional/emc/index.html>>. Acesso em: 14/07/2014.

VELICU, M.; SURI, R. Presence of steroid hormones and antibiotics in surface water of agricultural, suburban and mixed-use areas. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 154, n. 1-4, p. 349-359, 2009.

VERA-CANDIOTI, L.; GIL GARCIA, M. D.; MARTINEZ GALERA, M.; GOICOECHEA, H. C. Chemometric assisted solid-phase microextraction for the determination of anti-inflammatory and antiepileptic drugs in river water by liquid chromatography-diode array detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1211, n. 1-2, p. 22-32, 2008.

VERLIEFDE, A.; CORNELISSEN, E.; AMY, G.; BRUGGEN, B. V.; DIJK, H. Priority organic micropollutants in water sources in Flanders and the Netherlands and assessment of removal possibilities with nanofiltration. **Environmental Pollution**, v. 146, n. 1, p. 281-289, 2007.

WARING, R. H.; HARRIS, R. M. Endocrine disruptors: a human risk? **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 244, n. 1-2, p. 2-9, 2005.

WATKINSON, A. J.; MURBY, E. J.; KOLPIN, D. W.; COSTANZO, S. D. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 8, p. 2711-2723, 2009.

ZHANG, Y.; GEISSEN, S. U.; GAL, C. Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. **Chemosphere**, v. 73, n. 8, p. 1151-1161, 2008.

ZUCCATO, E.; CASTIGLIONI, S.; FANELLI, R. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 122, n. 3, p. 205-209, 2005.

ZUO, Y.; ZHANG, K.; LIN, Y. Microwave-accelerated derivatization for the simultaneous gas chromatographic-mass spectrometric analysis of natural and synthetic estrogenic steroids. **Journal of Chromatography A**, v. 1148, n. 2, p. 211-218, 2007.

ANEXOS

ANEXO 1 – Dados completos dos planejamentos fatoriais

Tabela A1.1 – Parâmetros estatísticos e cálculo dos efeitos para o planejamento fatorial 2^{5-1} para otimização dos parâmetros cromatográficos.

Parâmetros Estatísticos/Fatores	IBU-D3	IBU	PARAC	ATZ-D5	ATZ	OCT	CAF	NON	MTCS	TCS	BISA-D16	BISA	E1	E2-D3	E2	TTN	EE2	PGN	E3
Média Ponto Central:	2.585	2.857	3.908	22.879	27.323	439.552	31.725	496.252	146.614	172.405	568.258	739.846	219.333	172.677	204.642	24.562	8.292	8.273	119.807
Estimativa de Desvio Padrão:	2.721	2.879	527	987	824	163.720	2.043	197.123	16.502	91.474	423.281	552.084	154.851	111.907	126.313	13.721	2.785	570	85.396
Desvio x t student*:	11.710	12.388	2.268	4.247	3.547	704.486	8.792	848.222	71.009	393.610	1.821.379	2.375.619	666.323	481.534	543.524	59.043	11.986	2.452	367.460
Efeitos Principais																			
1-T injetor (T injet) (°C):	-7.092	-9.339	6.635	-1.885	-4.752	-37.157	2.642	-51.582	-608	-27.764	-55.649	-80.681	-1.802	8.633	-3	1.180	5.351	262	15.829
2-T linha de transferência (T linha transf) (°C):	6.936	8.741	1.225	871	1.403	-39.847	4.925	-26.564	4.368	13.270	8.078	9.157	11.552	-17.844	-20.541	2.495	-2.589	675	-15.227
3-Pulso de Pressão (P pressão) (kPa):	7.440	9.512	3.339	14.744	18.168	138.328	13.767	175.006	53.260	67.080	203.475	240.607	87.889	54.798	67.077	6.054	3.069	2.022	37.929
4-t Pulso de pressão (t p pressão) (min):	-7.338	-9.575	-1.676	-1.301	-1.591	-36.136	-1.683	-38.111	1.624	-2.297	-55.049	-66.864	-13.152	-25.063	-26.194	624	-4.419	-54	-22.291
5-t splitless (min):	7.205	9.371	5.345	1.872	1.393	51.289	-258	77.097	14.072	38.541	194.029	230.602	60.358	57.337	65.005	7.124	6.563	69	70.602
Efeitos 2ª ordem																			
T injet x T linha transf:	-7.291	-9.184	-2.599	-5.134	-2.344	-108.616	-6.501	-86.420	-18.353	-27.416	-68.710	-86.929	-18.343	-11.889	-12.070	-1.549	-4.517	-1.985	-5.808
T injet x P Pressão:	-7.300	-9.443	-669	-1.027	-4.542	12.389	209	-4.008	1.947	-23.572	-40.188	-61.099	-23.078	5.015	-1.808	-966	3.860	-1.120	3.061
T injet x t p pressão:	7.137	9.316	2.177	-479	-655	107.680	1.475	96.627	510	26.361	115.706	125.753	37.119	28.046	33.583	-827	39	-183	29.454
T injet x t splitless:	-7.193	-9.160	1.085	-1.399	-1.734	-53.876	1.225	-23.001	1.747	12.756	36.106	26.275	8.146	-1.773	-9.924	-129	-1.095	-765	-7.504
T linha trans x P pressão:	6.866	8.793	1.555	-1.631	1.022	-27.693	322	-29.981	64	305	-40.990	-73.483	-9.956	-29.485	-21.635	-350	-2.196	-7	-25.521
T linha trans x t p pressão:	-7.295	-9.465	-1.928	-7.052	-4.907	-23.152	-3.272	-24.031	-14.756	11.073	5.111	665	-15.075	-12.733	-22.645	-7.065	-552	-191	-13.537
T linha trans x t splitless:	7.054	9.029	2.125	1.457	2.343	124.337	1.947	133.676	13.373	50.018	220.439	267.085	80.917	61.539	65.030	5.553	-721	393	1.541
P pressão x t p pressão:	-7.186	-9.157	-1.967	2.246	1.191	-12.562	1.476	-4.425	5.876	9.101	-14.310	-12.932	-5.498	-16.781	-22.227	-1.010	-1.804	-107	-12.968
P pressão x t splitless:	6.981	9.065	2.180	-291	-594	-3.288	-714	-551	-4.834	-2.570	39.768	34.331	2.837	4.888	22.620	1.907	3.338	935	20.194
t p pressão x t splitless:	-7.030	-8.983	-2.412	1.252	444	31.716	-950	21.238	7.859	-11.911	-3.613	-13.761	-5.654	17.838	17.821	3.189	1.142	685	9.705
Efeitos 3ª ordem																			
T injet x T linha transf x P pressão:	-7.030	-8.983	-2.412	1.252	444	31.716	-950	21.238	7.859	-11.911	-3.613	-13.761	-5.654	17.838	17.821	3.189	1.142	685	9.705
T injet x T linha transf x t p pressão:	6.981	9.065	2.180	-291	-594	-3.288	-714	-551	-4.834	-2.570	39.768	34.331	2.837	4.888	22.620	1.907	3.338	935	20.194
T injet x T linha transf x t splitless:	-7.186	-9.157	-1.967	2.246	1.191	-12.562	1.476	-4.425	5.876	9.101	-14.310	-12.932	-5.498	-16.781	-22.227	-1.010	-1.804	-107	-12.968
T injet x P Pressão x t p pressão:	7.054	9.029	2.125	1.457	2.343	124.337	1.947	133.676	13.373	50.018	220.439	267.085	80.917	61.539	65.030	5.553	-721	393	1.541
T injet x P Pressão x t splitless:	-7.295	-9.465	-1.928	-7.052	-4.907	-23.152	-3.272	-24.031	-14.756	11.073	5.111	665	-15.075	-12.733	-22.645	-7.065	-552	-191	-13.537
T injet x t p pressão x t splitless:	6.866	8.793	1.555	-1.631	1.022	-27.693	322	-29.981	64	305	-40.990	-73.483	-9.956	-29.485	-21.635	-350	-2.196	-7	-25.521
T linha transf x P pressão x t p pressão:	-7.193	-9.160	1.085	-1.399	-1.734	-53.876	1.225	-23.001	1.747	12.756	36.106	26.275	8.146	-1.773	-9.924	-129	-1.095	-765	-7.504
T linha transf x P pressão x t splitless:	7.137	9.316	2.177	-479	-655	107.680	1.475	96.627	510	26.361	115.706	125.753	37.119	28.046	33.583	-827	39	-183	29.454
T linha transf x t p pressão x t splitless:	-7.300	-9.443	-669	-1.027	-4.542	12.389	209	-4.008	1.947	-23.572	-40.188	-61.099	-23.078	5.015	-1.808	-966	3.860	-1.120	3.061
P pressão x t p pressão x t splitless:	-7.291	-9.184	-2.599	-5.134	-2.344	-108.616	-6.501	-86.420	-18.353	-27.416	-68.710	-86.929	-18.343	-11.889	-12.070	-1.549	-4.517	-1.985	-5.808

* t de student para 2 graus de liberdade, com 95% de confiança

Tabela A1.2 – Parâmetros estatísticos e cálculo dos efeitos para o planejamento fatorial 2^3 para otimização do método de derivatização em banho termostatzado (*derivatização 1*).

.Parâmetros Estatísticos / Fatores	IBU-D3	IBU	PARAC	ATZ-D5	ATZ	OCT	CAF	NON	MTCS	TCS	BISA	E1	E2-D3	E2	TTN	EE2	PGN	E3
Média Ponto Central:	12.110	33.430	1.150.600	411.249	364.943	2.052.797	393.911	5.110.798	1.257.515	887.874	2.975.865	2.059.634	777.734	938.332	426.837	191.169	115.771	674.260
Estimativa Desv Padrão:	2.390	5.919	309.505	45.035	33.656	256.501	59.558	431.971	106.524	76.537	388.507	261.969	91.352	98.660	101.165	75.705	34.135	108.458
Desvio x t student*:	7.605	18.833	984.845	143.302	107.094	816.186	189.513	1.374.531	338.959	243.541	1.236.230	833.584	290.683	313.936	321.906	240.893	108.616	345.113
Efeitos Principais																		
1-T banho (°C):	7.677	22.227	-200.468	24.431	6.210	71.140	33.667	-223.068	-10.269	-111.182	-215.385	-79.592	-32.732	-30.049	-20.387	62.909	4.586	-86.521
2-t derivatização (min):	-2.018	-4.864	-130.814	15.949	32.701	-117.768	25.004	-68.109	93.562	4.131	-138.028	-19.262	-18.696	-23.962	-86.403	-15.399	-15.197	-60.808
3-V derivatizante (µL):	-2.818	-7.130	-102.671	14.942	11.658	37.249	18.843	21.075	-11.353	-76.706	-250.789	-172.303	-1.122	-52.395	9.484	11.819	-1.099	-37.209
Efeitos 2ª ordem																		
T banho x t deriv:	-340	-1.162	-165.015	-6.305	-7.733	101.809	-6.675	10.265	35.589	-38.708	-138.256	-112.395	-31.595	-56.300	59.565	-32.393	8.221	-27.826
T banho x V deriv:	-7.424	-21.228	-256.894	-3.763	-1.881	-258.799	-18.466	-362.994	-88.570	-136.938	-471.095	-416.542	-138.830	-125.082	19.214	12.402	9.141	-59.314
t deriv x V deriv:	-472	-153	-120.651	-15.702	-9.216	-151.690	-9.854	-311.060	-46.752	-101.076	-293.278	-154.029	-59.087	-103.872	-34.567	-31.366	-5.455	-91.877
Efeitos 3ª ordem																		
T banho x t deriv x V deriv:	2.491	5.875	-46.806	-2.977	292	-95.224	3.098	-150.172	-62.675	-64.864	-207.138	-200.157	-7.345	26.307	-4.885	14.524	2.347	-23.811

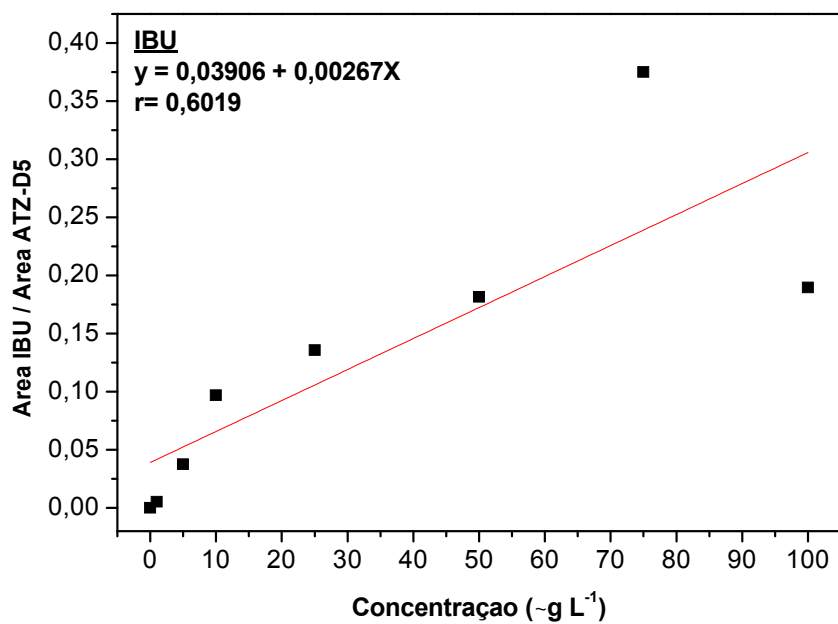
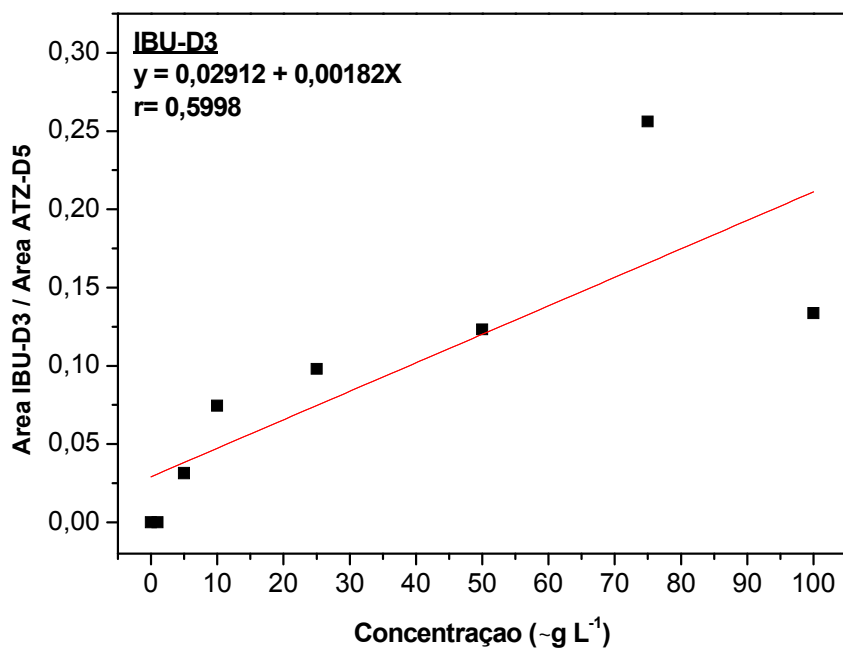
* t de student para 3 graus de liberdade, com 95% de confiança

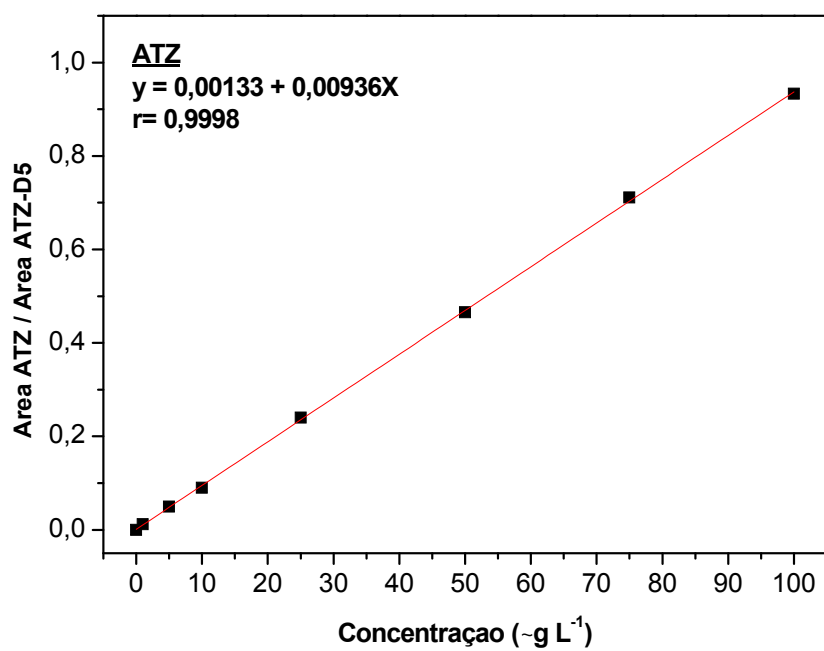
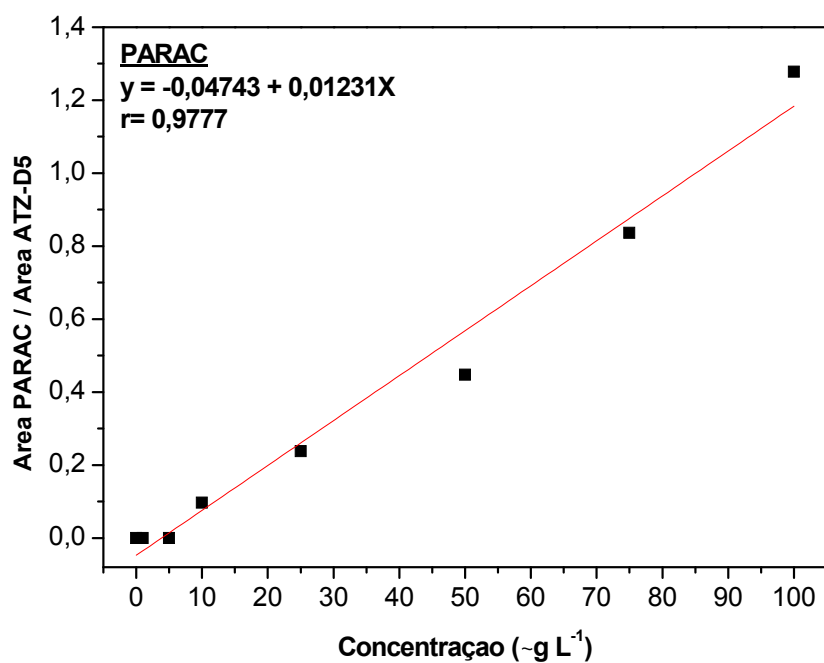
Tabela A1.3 – Parâmetros estatísticos e cálculo dos efeitos para o planejamento fatorial 2³ para otimização do método de derivatização em forno micro-ondas (*derivatização2*).

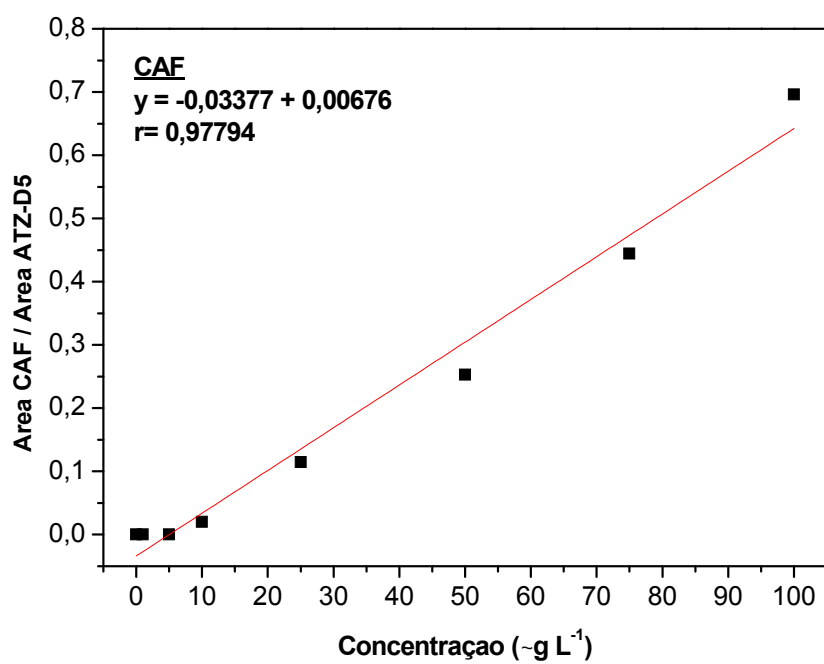
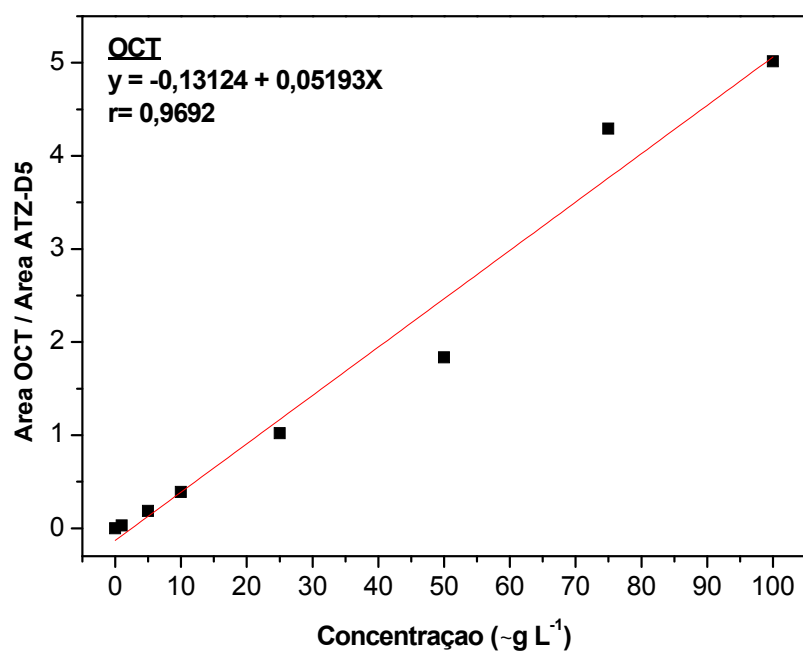
Parâmetros Estatísticos / Fatores	IBU-D3	IBU	PARAC	ATZ-D5	ATZ	OCT	CAF	NON	MTCS	TCS	BISA-D16	BISA	E1	E2-D3	E2	TTN	EE2	PGN	E3
Média Ponto Central:	63.404	93.127	1.596.884	729.685	705.868	3.795.789	789.481	4.302.025	202.685	1.385.700	6.796.541	7.744.442	2.205.265	1.814.926	2.242.273	585.219	415.735	168.956	1.799.354
Estimativa Desv Pad:	42.140	66.440	62.067	38.744	48.345	243.704	53.737	98.602	22.807	99.590	341.080	387.787	134.540	49.382	133.251	85.466	87.571	29.218	100.372
Desv x t student*:	116.981	184.439	172.298	107.553	134.206	676.521	149.173	273.718	63.314	276.461	946.837	1.076.496	373.482	137.086	369.905	237.255	243.098	81.109	278.632
Efeitos Principais																			
1-Potência (%):	131.595	178.879	185.854	37.210	45.444	349.280	75.234	132.656	20.790	-128.594	-150.585	-187.985	6.440	-10.154	57.286	49.668	27.160	9.520	-141.717
2-t derivatização (min):	-80.172	-105.032	-230.811	68.934	91.384	217.620	100.302	230.836	21.600	54.937	127.299	333.890	67.122	31.874	15.658	58.707	77.189	21.053	36.536
3-V derivatizante (µL):	77.620	96.730	-275.316	11.377	-4.253	-451.860	52.036	-624.432	12.998	-254.507	-1.441.381	-1.690.474	-471.144	-232.486	-167.767	-14.077	144.220	-2.661	-286.465
Efeitos 2ª ordem																			
Potência x t deriv:	-333.183	-523.220	-477.393	-42.892	-38.086	-1.058.706	-27.413	-1.089.195	-8.233	-455.471	-2.195.192	-2.182.061	-463.835	-311.876	-412.902	-6.640	-27.241	2.199	-536.593
Potência x V deriv:	285.701	448.344	-83.502	-3.868	-49.239	-15.438	290	81.986	-11.416	199.083	351.288	274.737	10.253	-32.043	49.401	-63.173	-60.873	-11.171	24.115
t deriv x V deriv:	-334.700	-519.995	124.813	26.297	44.725	-207.218	-490	-221.483	5.310	-79.489	-179.150	-109.542	-24.487	67.785	94.994	7.151	21.831	6.941	-1.106
Efeitos 3ª ordem																			
Pot x t deriv x V deriv:	-124.885	-170.457	-698.219	24.001	39.698	-346.751	28.978	-419.752	4.738	-273.510	-1.259.094	-1.540.247	-354.479	-184.824	-277.525	-139	-43.731	9.271	-379.257

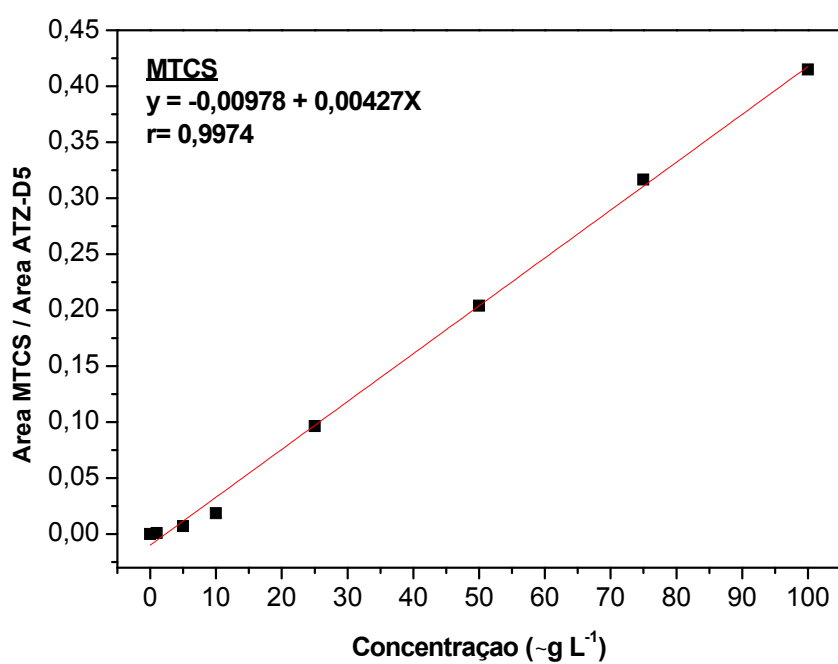
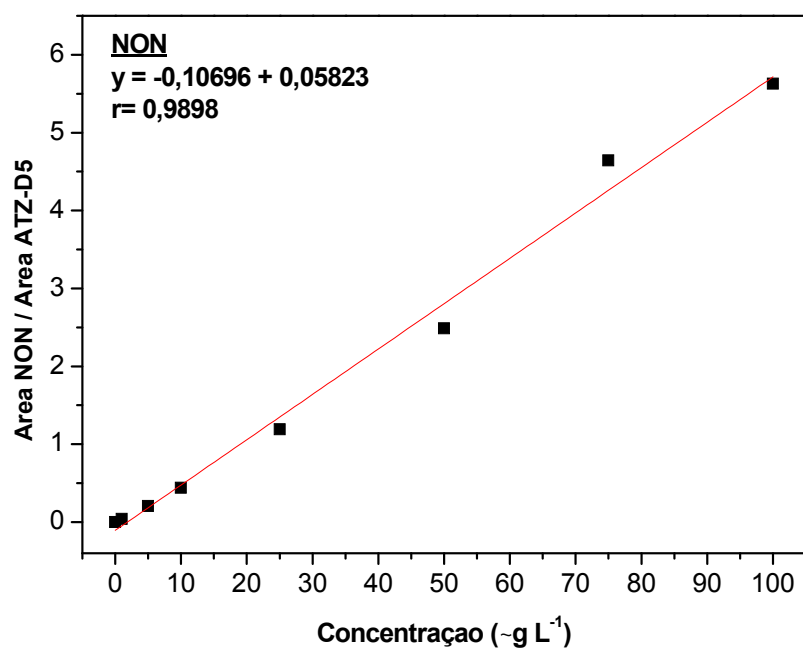
* t de student para 4 graus de liberdade, com 95% de confiança

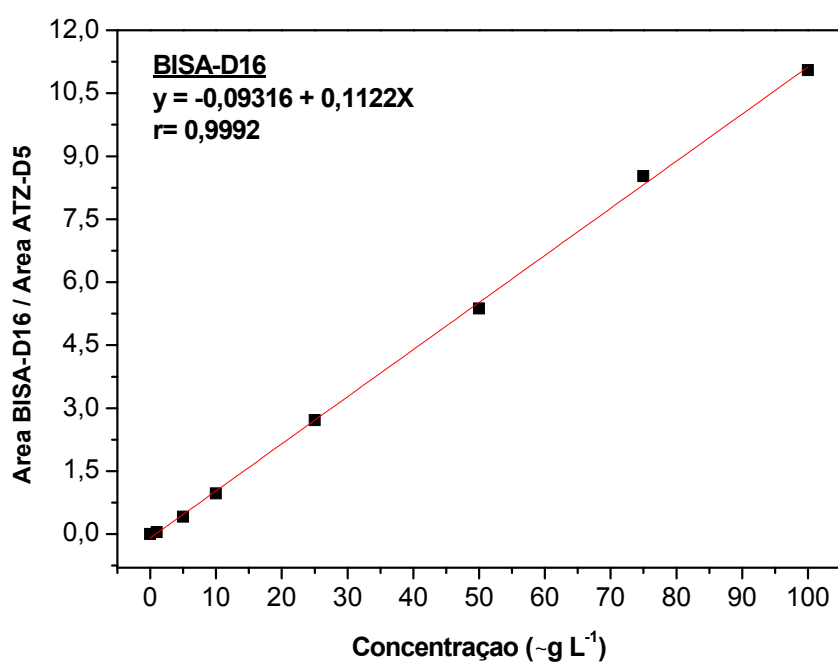
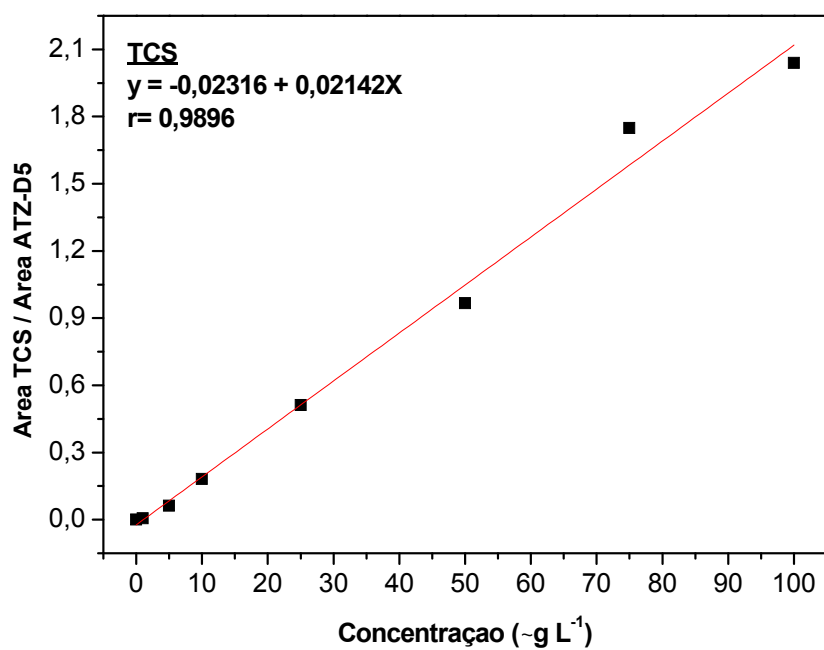
ANEXO 2 – Curva Analítica

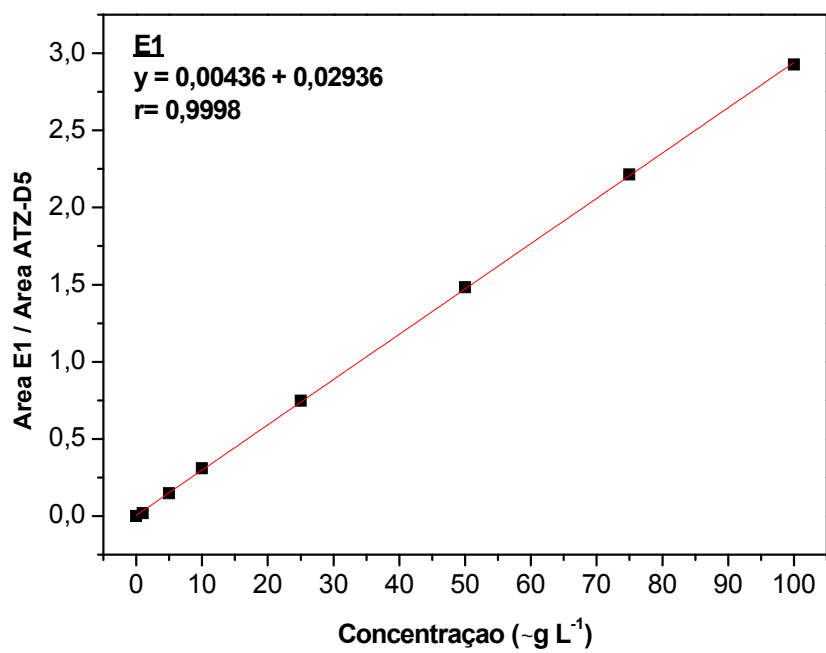
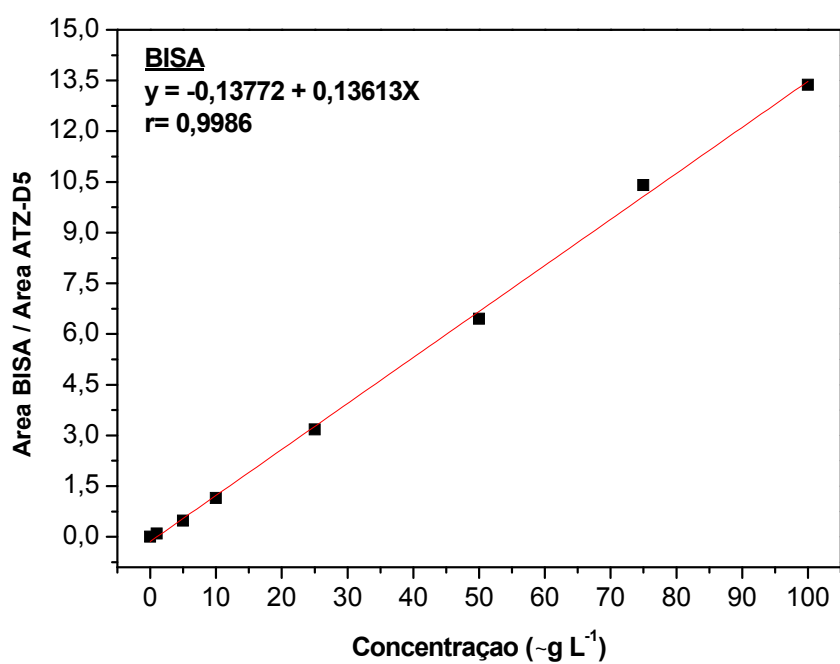


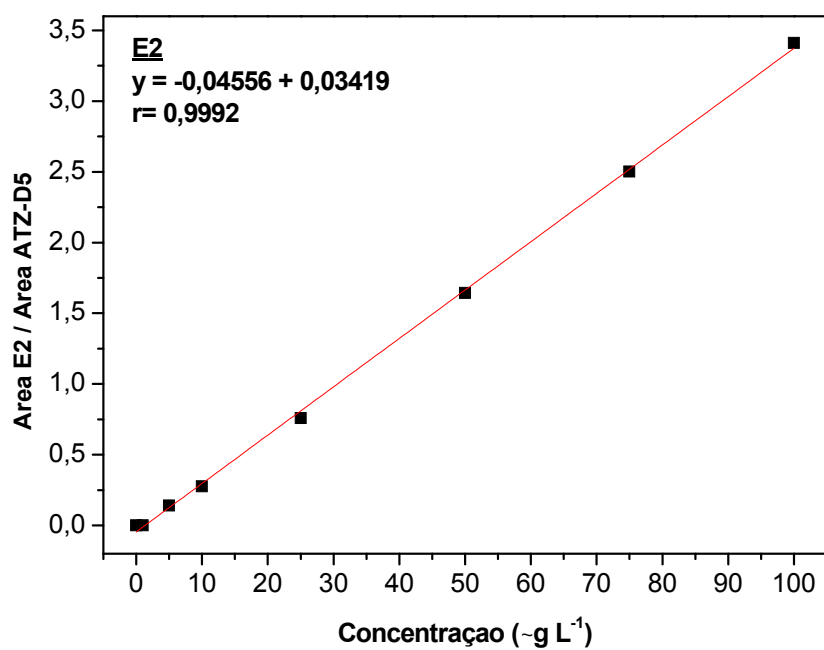
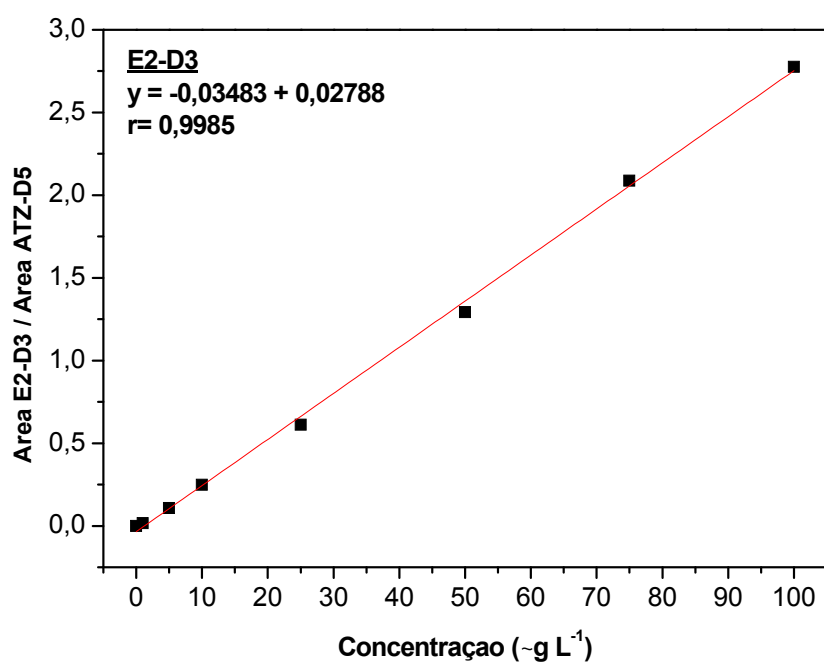


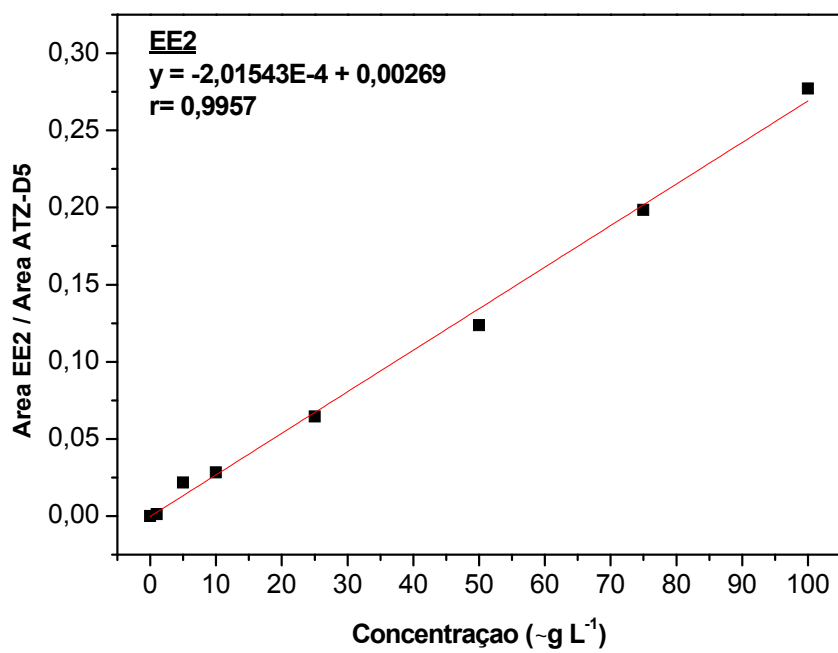
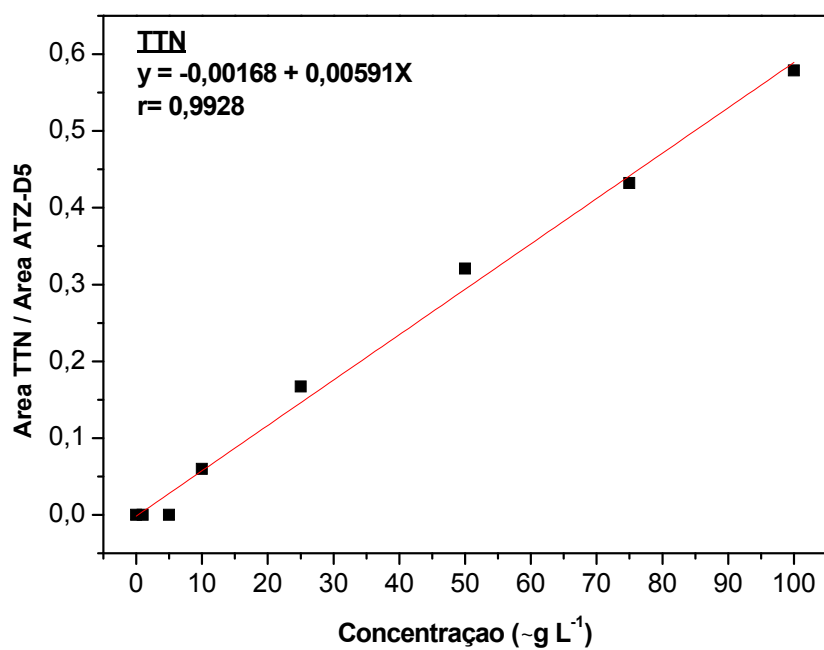












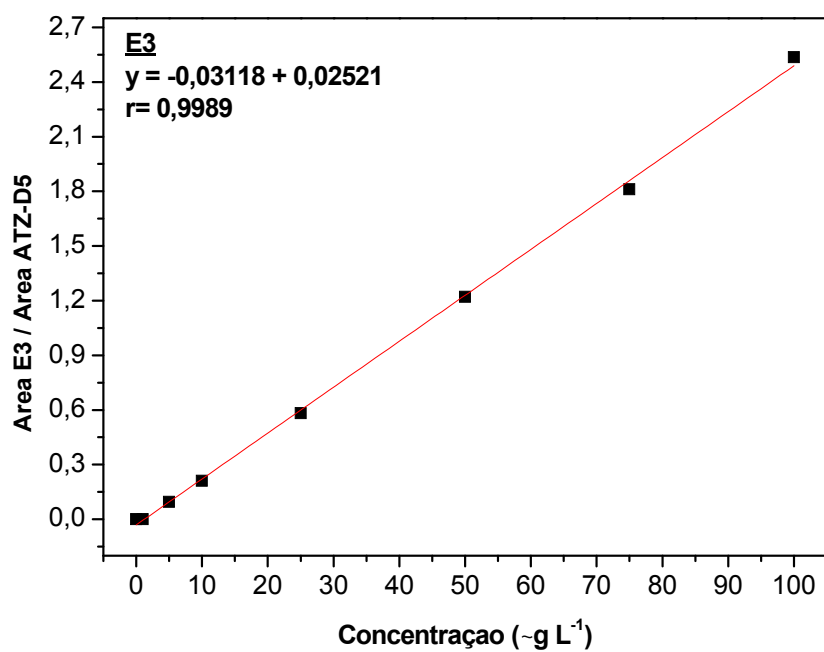
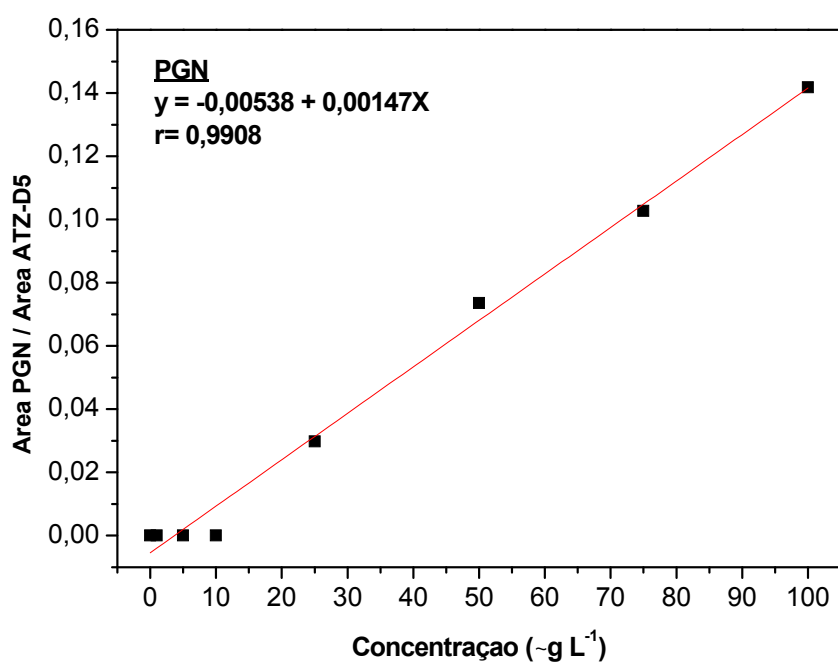


Figura A2.1 - Curvas analíticas para 18 padrões de contaminantes emergentes. Concentrações: 1, 5, 10, 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Concentração do padrão interno: 100 $\mu\text{g L}^{-1}$.

ANEXO 3 – Cromatogramas e Espectros de Massas dos Contaminantes Emergentes

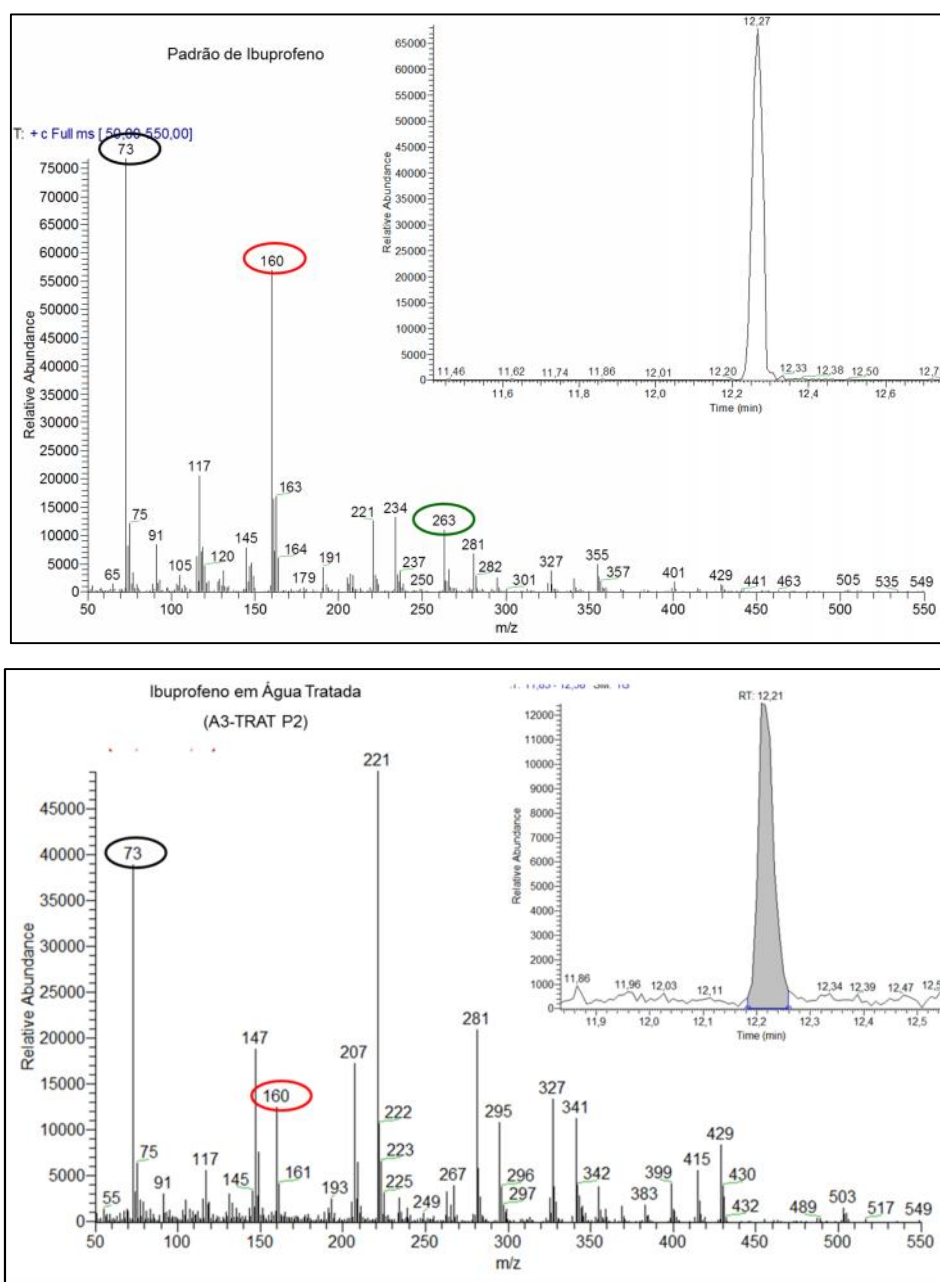


Figura A3.1 – Cromatogramas e espectros de massas do ibuprofeno em solução padrão e em água tratada, respectivamente ($m/z_{\text{quantificação}} = 160$).

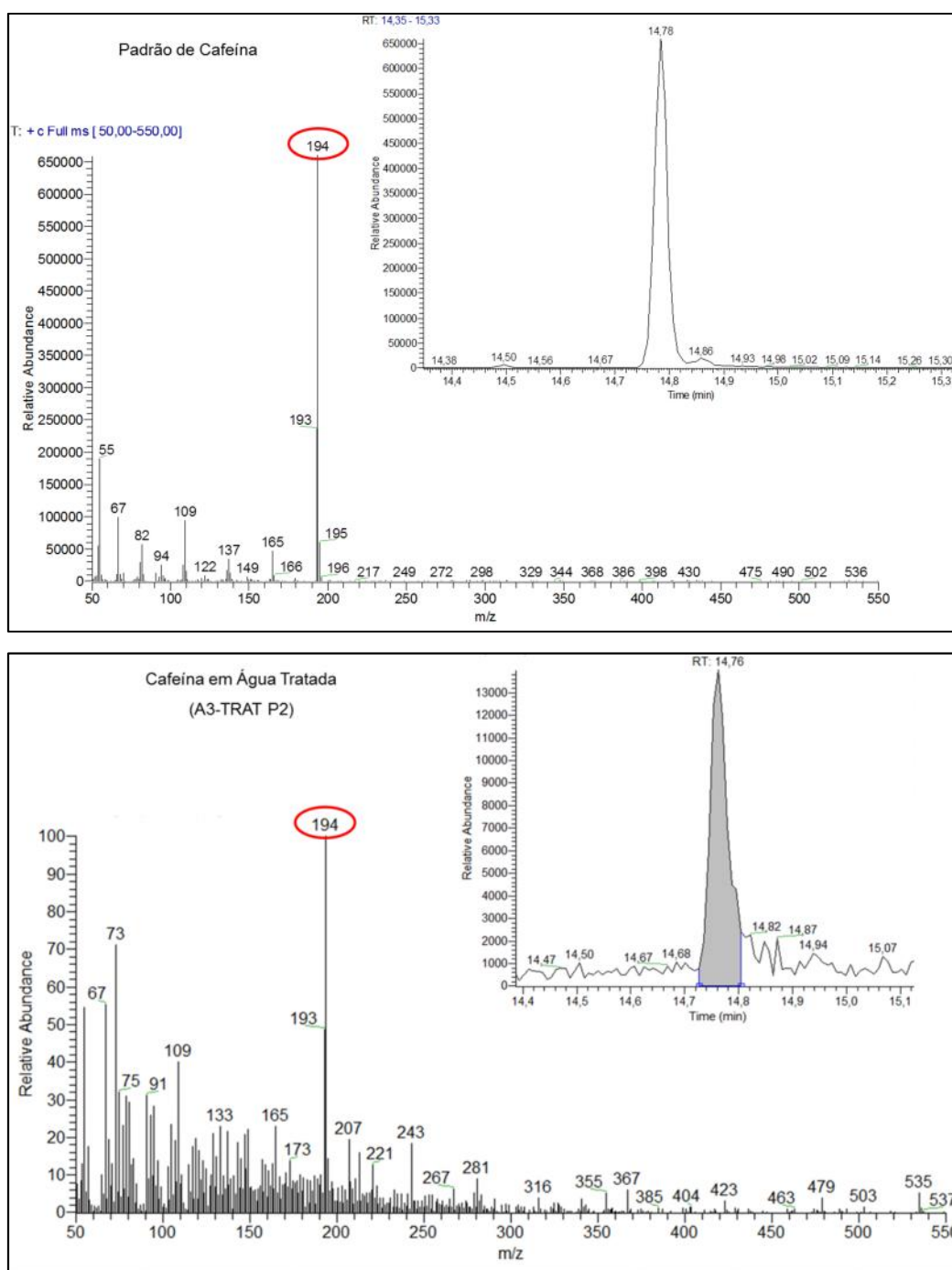


Figura A3.2 – Cromatogramas e espectros de massas da cafeína em solução padrão e em água tratada, respectivamente. ($m/z_{\text{quantificação}} = 194$).

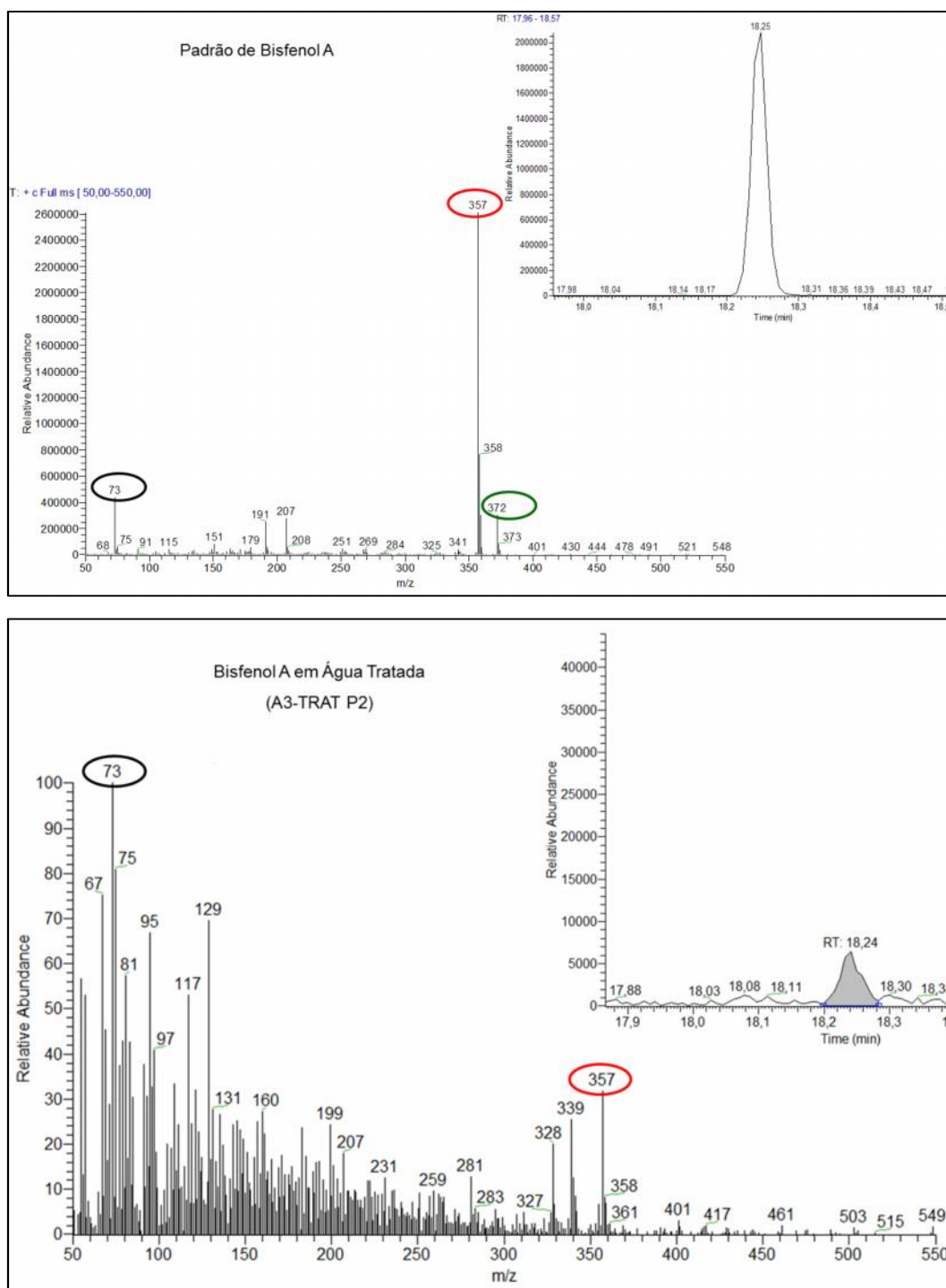


Figura A3.3 – Cromatogramas e espectros de massas do bisfenol A em solução padrão e em água tratada, respectivamente ($m/z_{\text{quantificação}} = 357$).